

UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON
- MEDECINE -
U. E. R. LYON-NORD

Année 1977 - N° 256

**L'IMMUNOTHERAPIE ANTITUMORALE SPECIFIQUE
EN 1977**

DONNEES ACTUELLES ET PERSPECTIVES

THESE

présentée

à l'Université Claude-Bernard - LYON

et soutenue publiquement le 16 Juin 1977

pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par

Denis GERLIER

né le 30 Juillet 1951

à BOURG-EN-BRESSE (Ain)

UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON
- MEDECINE -
U. E. R. LYON-NORD

Année 1977 - N°

**L'IMMUNOTHERAPIE ANTITUMORALE SPECIFIQUE
EN 1977**

DONNEES ACTUELLES ET PERSPECTIVES



THESE

présentée

à l'Université Claude-Bernard - LYON

et soutenue publiquement le 16 Juin 1977

pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par

Denis GERLIER

né le 30 Juillet 1951

à BOURG-EN-BRESSE (Ain)

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON I

Président de l'Université : Monsieur le Professeur D. GERMAIN
Premier Vice-Président : Monsieur le Professeur E. ELBAZ
Deuxième Vice-Président : Monsieur B. ROUSSET
Troisième Vice-Président : Monsieur R. LOPEZ
Secrétaire Général : Monsieur J. RAMBAUD

UNITES D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE DE L'UNIVERSITE

MEDECINE - GRANGE-BLANCHE - Directeur : Monsieur le Docteur B. SALLE (MCA)
ALEXIS-CARREL Directeur Monsieur le Professeur R. MORNEX
SUD-OUEST Directeur Monsieur le Professeur J. NORMAND
LYON-NORD Directeur Monsieur le Docteur J.P. NEIDHARDT
Directeur
Honoraire : Monsieur le Professeur A. BERTOYE

BIOLOGIE HUMAINE - Directeur : Monsieur le Docteur J.P. REVILLARD (MCA)

TECHNIQUES DE READAPTATION - Directeur : Monsieur le Docteur A. MORGON (MCA)

SCIENCES PHARMACEUTIQUES - Directeur : Monsieur le Professeur BIZOLLON

SCIENCES ODONTOLOGIQUES - Directeur:: Monsieur le Docteur R. VINCENT

INSTITUT REGIONAL D'EDUCATION PHYSIQUE ET SPORTIVE :

Président du conseil d'UER : Monsieur le Professeur R. GUILLET

Directeur : Monsieur A. MILLON

MATHEMATIQUES - Directeur : Monsieur le Professeur E. COMBET

PHYSIQUE - Directeur : Monsieur le Professeur J. DELMAU

CHIMIE ET BIOCHIMIE - Directeur : Monsieur le Professeur J. HUET

SCIENCES DE LA NATURE - Directeur : Monsieur le Professeur R. GINET

SCIENCES PHYSIOLOGIQUES - Directeur : Mademoiselle le Professeur J.F. WORBE

INSTITUT UNIVERSITAIRE ET TECHNOLOGIE N° 1 - Directeur : Mr le professeur B. POUYET

INSTITUT UNIVERSITAIRE ET TECHNOLOGIE N° 2 - Directeur : M.J. GALLET (Directeur
ENSAM)

OBSERVATOIRE - Directeur : Monsieur MONNET (Astronome Adjoint)

PHYSIQUE NUCLEAIRE - Directeur : Monsieur le Professeur GUSAKOW

MECANIQUE - Directeur : Mademoiselle le Professeur G. COMTE-BELLOT.

A Lisiane,

Tout au long de mon labeur elle m'est restée de tendre compagnie,
Cette thèse lui est dédiée en gage de mon amour.

A ma mère, A mon père,

Ce travail représente le fruit de leurs sacrifices passés,
Qu'ils y trouvent le témoignage de ma reconnaissance et de mon
affection.

A ma soeur, A mes frères,

A toute ma famille,

A tous mes amis,

A Michel Robin

Qui a bien voulu me relire.

A notre président de thèse,
Monsieur Le Professeur M. MAYER

La confiance, qu'il nous accorde en nous permettant d'effectuer
des recherches au laboratoire d'Immunologie et de Cancérologie
Expérimentale du Centre Léon Bérard, nous honore,
Il nous a toujours accueilli avec une grande bienveillance.
Nous le remercions d'avoir bien voulu juger ce travail,
et l'assurons de notre profonde gratitude.

A nos juges,

Monsieur le Docteur J.F. DORE,

Nous avons eu le plaisir de faire sa connaissance, alors qu'il nous enseignait l'immunologie des tumeurs, dans le cadre du Certificat de Biologie Humaine de Cancérologie Expérimentale.

A notre grande joie, il devint, il y a deux ans, notre "patron", et accepta de poursuivre notre formation de chercheur.

Nous lui sommes reconnaissant des précieux conseils qu'il nous prodigue, et nous espérons, par ce travail, nous montrer digne de sa confiance.

Nous souhaitons resserrer encore les liens de respectueuse amitié qui nous unissent à lui.

Monsieur le Professeur L. SCHWARZENBERG

Nous avons été très touché de l'extrême gentillesse avec laquelle il a accepté de venir juger cette thèse.

Nous regrettons de ne le connaître qu'à travers ses travaux, mais nous espérons que ce travail sera digne de sa réputation.

Nous le remercions encore vivement pour l'honneur qu'il nous fait.

Monsieur le Professeur J.P. REVILLARD,

Nous le connaissons essentiellement à travers sa renommée d'Immunologiste.

Nous l'avons un peu pratiqué dans son enseignement hospitalo-universitaire lors d'un bref semestre de néphrologie.

Nous le remercions de ses conseils et sommes honoré de sa présence parmi nos juges.

Monsieur le Professeur J.C. MONIER,

Il a été pour nous un enseignant hors pair.

Son enthousiasme pour l'immunologie nous a conquis.

Son contact nous a conforté dans la voie que nous avons choisie.

Nous espérons pouvoir bénéficier encore longtemps de ses conseils amicaux.

Puisse ce travail être digne de son enseignement.

A la mémoire de Jean-Jacques BOURGOIN,

Il avait su nous accueillir et nous communiquer par son dynamisme sa passion pour la recherche médicale.

Son aide amicale et généreuse nous a été précieuse.

Il aurait très certainement apprécié le sujet de ce travail.

Nous espérons être digne de la confiance qu'il nous avait accordée.

A Jacques BERTOGLIO,

Notre enthousiasme commun pour une certaine appréhension de
la médecine nous a fait prendre un chemin identique.
Notre compagnonage nous a permis de suivre jusqu'au bout et
avec succès des études à la fois médicales et scientifiques.
Ton caractère ambitieux nous a souvent servi de moteur.
Puissè-je garder ton estime et ta franche camaraderie.

A nos maîtres dans les hôpitaux,

Mr le Professeur JEUNE

Mr le Professeur TRAEGER

Mr le Professeur JAUBERT DE BEAUJEU

Mr le Professeur MOULIN

A tous les médecins et biologistes du Centre Léon Bérard, qui nous ont toujours accueilli amicalement.

A tout le personnel du laboratoire d'Immunologie du Centre Léon Bérard,

et plus particulièrement mesdames T. AVICE,
M. BAILLY, C BOUCHAREL, J. GENEVE et G. MERLIN.

A Catherine GUIBOUT pour son amicale collaboration.

Aux chercheurs et techniciens de l'unité INSERM U 51 qui nous ont toujours manifesté leur amitié,
et plus particulièrement Michèle AUPOIX, Jean Claude LAURENT et Louis GAZZOLO.

Aux chercheurs et techniciens de l'unité INSERM U 117 de Bordeaux, avec lesquels une collaboration fructueuse et amicale s'est établie,

et plus particulièrement Bernard GUILLEMAIN et
Monsieur le Docteur DUPLAN.

- SOMMAIRE -

INTRODUCTION.....	1
PREMIERE PARTIE: Immunothérapie Active.....	4
1- <u>Définition et historique</u>	5
2- <u>Caractéristiques de l'agent immunogène et son obtention</u>	7
2-1- Caractéristiques que doit acquérir la cellule tumorale pour être utilisable en immunothérapie active.....	7
2-2- Techniques de modification des cellules tumorales.....	8
2-2-1- Altération de la division cellulaire.....	8
2-2-1-1-Traitement physique.....	8
2-2-1-2-Réactifs des acides nucléiques.....	11
2-2-2- Modifications chimiques ou biochimiques.....	11
2-2-2-1-Protéases.....	11
2-2-2-2-Réactifs des groupements aminés.....	12
2-2-2-3-Réactifs des groupements sulfhydriques.....	12
2-2-2-4-Réactifs des groupements hydrocarbonés.....	12
2-2-3 Modifications biologiques.....	15
2-2-3-1-Utilisation de cellules allogéniques.....	16
2-2-3-2-Utilisation de cellules tumorales après leur passage in vitro.....	16
2-2-3-3-Traitement des cellules tumorales par une drogue antinéoplasique.....	17
2-2-3-4-Oncolysat viral et xénogénisation.....	18
2-2-3-5-Hybridation cellulaire.....	19
2-2-4- Techniques diverses.....	20
3- <u>Conditions d'administration de l'agent immunogène (voie, nombre, chronologie et dose des injections, addition d'adjuvant) en relation avec les caractéristiques propres de l'hôte (capacité de réponse) et de sa tumeur (taille)</u>	20
3-1- Conditions d'administration de l'agent immunogène.....	21
3-1-1- Voie d'injection.....	21
3-1-2- Nombre et chronologie des injections.....	21
3-1-3- Dose d'agent immunogène.....	22
3-1-4- Addition d'adjuvant de l'immunité.....	22
3-2- Caractéristiques propres de l'hôte et de sa tumeur.....	23

.../...

DEUXIEME PARTIE: Immunothérapie adoptive.....	25
1- <u>Définition et historique</u>	26
2- <u>Les différents modes de transfert</u>	27
2-1- Transfert cellulaire.....	27
2-1-1- Cellules immunes obtenues in vivo.....	27
2-1-1-1-Immunisation interne	27
2-1-1-2-Immunisation externe	28
2-1-2- Cellules immunes obtenues in vitro.....	30
2-2- Transfert acellulaire	31
2-2-1- "RNA immun"	31
2-2-2- Facteur de Transfert	33
3- <u>Conditions du transfert adoptif en relation avec les</u> <u>réactions de l'hôte et de sa tumeur</u>	34
3-1- Source, nombre et mode de transfert des lymphocytes immuns	34
3-2- Rôle de l'hôte, nombre de cellules tumorales sensibles à la thérapeutique	35
TROISIEME PARTIE: Immunothérapie Passive:	36
1- <u>Définition et historique</u>	37
2- <u>Obtention de l'antisérum</u>	38
2-1- Techniques d'immunisation	38
2-2- Purification de l'antisérum	39
3- <u>Modalités d'utilisation</u>	40
3-1- Antisérum natif	40
3-1-1- Sans source de complément exogène	40
3-1-2- Avec addition de complément exogène	41
3-2- Antisérum, véhicule spécifique d'un agent cytotoxique ..	42
3-2-1- Transport d'isotopes radioactifs	42
3-2-2- Transport de toxines	43
3-2-3- Transport de drogues antinéoplasiques	43
4- <u>Conditions techniques d'utilisation d'un antisérum en</u> <u>relation avec l'hôte et sa tumeur</u>	45
4-1- Antisérum: dose à injecter, activité in vitro	45
4-2- Caractéristiques de la tumeur	46
4-2-1- Son origine anatomopathologique et sa localisation	46
4-2-2- Ses caractéristiques propres (métabolisme membranaire)..	49
4-3- Rôle de l'hôte	49

.../...

.../...

QUATRIEME PARTIE: Essais récents d'Immunothérapie chez	
l'Homme.....	51
CINQUIEME PARTIE: Mécanismes Immunologiques mis en jeu	
lors de l'Immunothérapie	54
1- <u>Mécanismes cellulaires</u>	55
2- <u>Mécanismes humoraux</u>	58
PERSPECTIVES.....	63
BIBLIOGRAPHIE	69

ABREVIATIONS

=====

BCG	Bacille de Calmette et Guérin
DNA	DeoxyriboNucleic Acid
DTIC	5-(3,3-Dimethyl-1-Triazeno) Imidazole-4-Carboxamide
FelV	Feline Leukaemia Virus
FOCMA	Feline OnCornavirus Associated Membrane Antigen
LPS	LipoPolySaccharide
MSV	Mouse Sarcoma Virus
RGH	Réaction de Greffon contre Hôte
RNA	RiboNucleic Acid
RSV	Rous Sarcoma Virus
SV 40	Simian Virus 40

INTRODUCTION

=====

Actuellement, le terme d'immunothérapie est presque exclusivement réservé au domaine cancérologique. Pourtant, étymologiquement, il n'exprime que l'action de guérir une maladie par une méthode qui permette à un organisme d'exprimer ou d'acquérir une résistance spécifiquement dirigée contre cette maladie. Ainsi, l'immunothérapie est-elle utilisée depuis fort longtemps et sous toute ses formes (active, adoptive et passive), en particulier dans le traitement ou la prévention des maladies infectieuses et plus récemment dans le traitement des déficits immunitaires (238). Le cancérologue ne l'a donc pas inventée, mais s'en est approprié le substantif.

Une immunothérapie en cancérologie, pourquoi faire ? Toutes les thérapeutiques antinéoplasiques échouent sur le même écueil: comment différencier l'attaque et la rendre spécifique de la cellule maligne, tout en épargnant la cellule saine voisine ? Aussi, depuis la fin du siècle dernier on a recherché une expression particulière de certaines molécules de surface, qui soit spécifique de la cellule tumorale, et qui puisse servir de cible. Le concept d'immunothérapie était né, mais il impliquait non seulement la reconnaissance du soi et du non-soi, mais celle du soi sain et du soi néoplasique. Or cette idée entraînait en conflit sur le plan théorique avec la notion développée par EHRLICH d'"horror autotoxicus", niant la possibilité pour un organisme de s'auto-détruire (329). En effet, l'immunothérapie souffrit dès sa conception de la difficulté de mettre en évidence et de confirmer la place des défenses immunitaires spécifiques dans le déroulement de la maladie cancéreuse, comme l'a très bien souligné encore récemment CURRIE (62). Ainsi, le rôle des défenses immunitaires dans le processus tumoral n'est-il pas clairement établi, car la plupart des arguments actuellement avancés (augmentation de la fréquence de certains cancers dans les états d'immunodéficience spontanée ou provoquée, l'état immunologique affaibli des patients porteurs de tumeur) peuvent donner lieu à des interprétations différentes (62). Le seul mécanisme de régulation interve-

venant de façon certaine et importante dans le processus cancéreux semble être la reconnaissance du soi sain et du soi néoplasique à l'échelon cellulaire (rôle du macrophage) (62). Cependant, le modèle des virus oncogènes dans la carcinogénèse expérimentale a permis de mettre en évidence de façon indiscutable l'intervention des réactions immunitaires de l'hôte, bien que ces réactions soient en partie dirigées contre l'agent viral lui-même (62).

De même, de multiples travaux en cancérologie expérimentale ont permis d'affirmer dans un certain nombre de cas l'existence d'antigènes tumoraux viro- ou chimio-induits, ainsi que d'autres modifications membranaires comme la réexpression d'antigènes embryonnaires, ou l'expression anormale d'antigènes de différenciation. Leur rôle dans des essais d'immunothérapie reste cependant obscur, bien que pressenti: aucune publication, à ce jour, n'a pu faire une relation directe entre des antigènes tumoraux bien définis et les cibles membranaires de la cellule maligne visées *in vivo* par la réponse immune. Aussi, les connaissances actuelles concernant l'immunothérapie ont été établies par de nombreuses approches expérimentales indirectes: les antigènes tumoraux connus et bien définis servent de guide à l'expérimentateur, sans que l'on puisse le plus souvent déterminer le rôle réel de ces antigènes dans les phénomènes observés; l'histoire de la science est parsemée de théories vraies, établies à partir de l'interprétation fausse de résultats expérimentaux, interprétation qui fut pourtant vérifiée dans ses applications. L'immunologie est pleine de promesses, l'immunothérapie est une réalité.

Nous nous proposons donc d'exposer les connaissances actuelles sur l'immunothérapie, surtout acquise durant ces cinq dernières années. Notre propos se limitera volontairement à l'immunothérapie de type spécifique, en excluant l'immunostimulation, qui à elle seule pourrait faire l'objet d'une autre étude. Nous aborderons successivement l'immunothérapie active, adoptive et passive, chacune des parties comprenant un bref historique et insistant sur les acquis; suivront quelques essais en clinique humaine et une étude des mécanismes effecteurs.

PREMIERE PARTIE

== =====

IMMUNOTHERAPIE ACTIVE

=====

1. Définition et historique.

L'immunothérapie active consiste à faire appel activement aux défenses immunitaires d'un organisme porteur de tumeur, en sollicitant une réponse spécifique par mise en contact de la "machinerie immunitaire" avec l'antigène tumoral (cf schéma n° 1). Elle n'est donc envisageable que chez un hôte immunologiquement compétent. Cependant, les relations entre l'hôte et sa tumeur étant complexes et mal connues, tout essai d'immunothérapie active chez l'animal ne donnera des chances raisonnables de résultats positifs que si, antérieurement, des expériences d'immunoprévention (il s'agit d'éprouver la résistance à un inoculum tumoral d'un animal préalablement immunisé contre la tumeur) ont pu démontrer que la technique d'obtention de l'agent immunogène est susceptible d'entraîner une immunisation efficace détectable par le rejet de la tumeur. Ainsi, les données actuelles de l'immunothérapie active sont-elles déduites principalement d'expériences d'immunoprévention, parfois complétées d'essais d'immunothérapie active, ces dernières prenant en compte les relations hôte-tumeur (cf schéma n° 1).

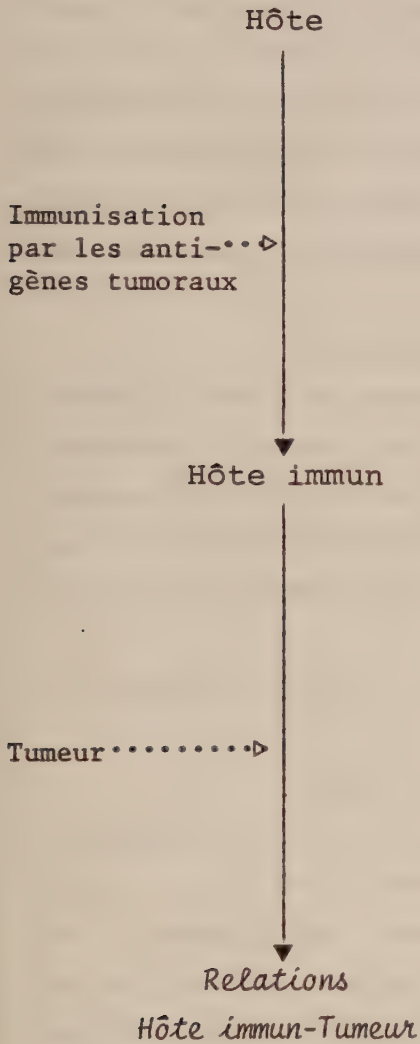
Un bref aperçu historique permettra de mieux comprendre ces données: les caractéristiques de l'agent immunogène vis-à-vis de la tumeur et de son hôte, les techniques utilisables pour l'obtenir et leurs mécanismes, enfin, les conditions d'administration, avec en particulier l'addition éventuelle d'un immunostimulant.

Les premiers essais d'immunothérapie active ont été décrits dès 1902 par VON LEYDEN et BLUMENTHAL (351). Ces auteurs ont injecté comme vaccin, des suspensions de cellules tumorales à des patients souffrants de divers cancers de stade clinique très évolué. Bien qu'aucun effet n'ait été observé, de nombreuses tentatives eurent lieu par la suite, sans que, malheureusement, l'immunothérapie active fût la preuve de son efficacité. De son côté, l'expérimenta-

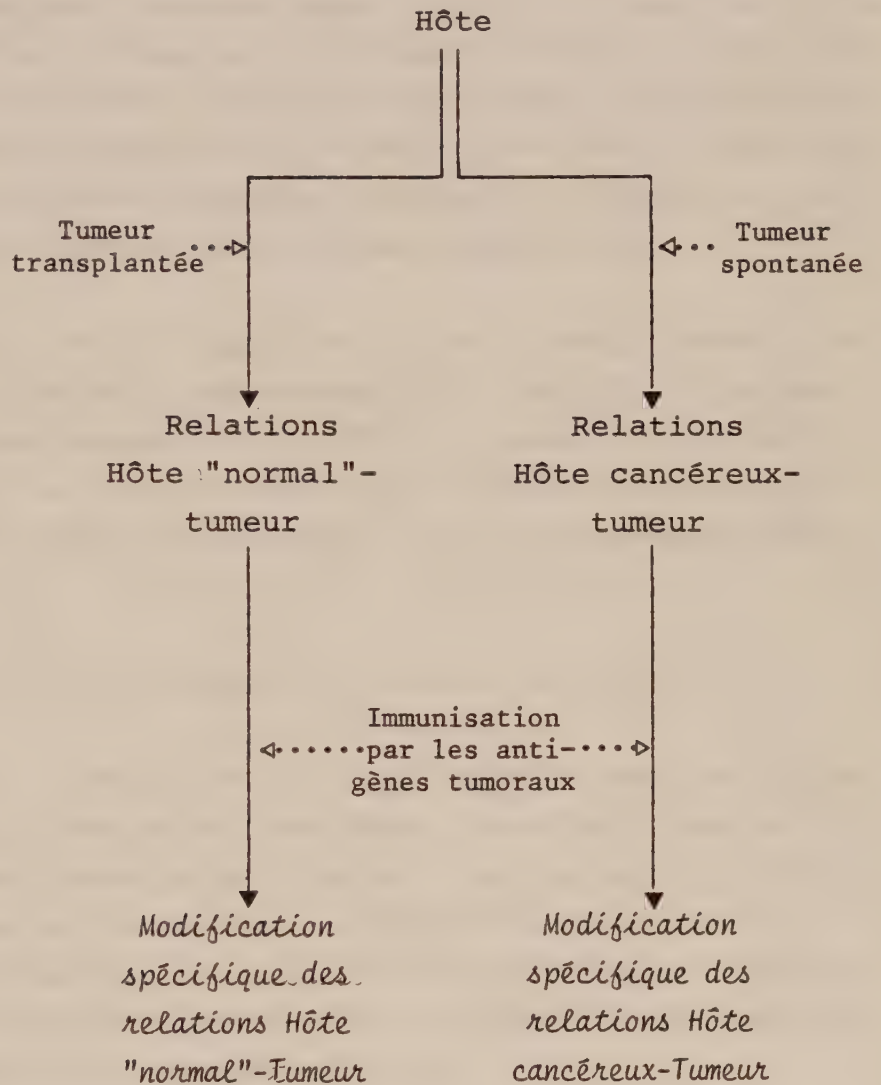
SCHEMA N° 1

Nature des relations Hôte-Tumeur en système syngénique
mises en jeu dans les modèles d'immunoprévention et d'immunothérapie

IMMUNOPREVENTION



IMMUNOTHERAPIE



tion animale ne prit son essor que lorsque des modèles animaux génétiquement contrôlés furent disponibles. En effet, le transfert de cellules tumorales d'un animal à l'autre, nécessaire pour explorer l'immunologie relative au cancer, n'est interprétable que si l'on connaît l'histocompatibilité existant entre donneur et receveur. L'établissement de lignées de souris homozygotes syngéniques "mimant" la gemellarité permit en 1943 à GROSS de démontrer pour la première fois l'existence d'antigènes tumoraux spécifiques de transplantation. Des souris C3H qui avaient reçues en intradermique des cellules syngéniques provenant d'un sarcome obtenu chez un animal de la même lignée développaient dans 80% des cas une tumeur; les souris, dont la tumeur avait regressé, étaient devenues capables de rejeter de façon spécifique un nouvel inoculum de la même tumeur. (148).

Cependant, l'étude approfondie de l'immunothérapie ne commença véritablement que vers les années 1970. La définition des caractéristiques que doit comporter la cellule tumorale comme agent immunogène a permis, par la suite, de développer différentes techniques de modification des cellules malignes, dont certaines se révèlent très prometteuses.

2. *Caractéristiques de l'agent immunogène et son obtention.*

Comme dans l'immunothérapie anti-bactérienne ou virale, l'injection de l'unité porteuse des antigènes, sous sa forme native (ici, la cellule tumorale autologue vivante), est impossible puisque susceptible d'entraîner elle-même la formation d'une tumeur. Par ailleurs, les antigènes de transplantation spécifiques de tumeur sont le plus souvent faiblement immunogènes. L'agent immunisant devra donc comporter certaines caractéristiques.

2.1 Caractéristiques que doit acquérir la cellule tumorale pour être utilisable en immunothérapie active.

Elles peuvent être énoncées comme suit: la source d'antigène tumoral doit être:

- de "tumorigénicité" nulle ou très affaiblie,
- d'immunogénicité (c'est-à-dire avoir la capacité

d'induire une réponse immunitaire) augmentée (soit par augmentation de l'expression antigénique, soit par addition d'une structure jouant le rôle de porteur, dans l'hypothèse d'un système haptène-porteur),

- de réactivité antigénique identique ou croisée avec les antigènes exprimés par la cellule maligne dans la tumeur (en particulier, lorsque la source d'antigène est histoincompatible par rapport à la tumeur).

D'emblée, il faut cependant noter que, d'une façon générale, la meilleure immunisation est très souvent obtenue à l'aide de cellules dont le pouvoir mitotique reste intact, car l'exposition de l'antigène sur une structure membranaire et la multiplication de la cellule immunisante sont des facteurs supplémentaires de stimulation de la réponse immune.

2.2 Techniques de modification des cellules tumorales.

La plupart de ces techniques sont résumées dans le tableau n° 1, dérivé de PRAGER et coll. (266), et elles seront envisagées par groupe avec leurs particularités, surtout en relation avec les caractéristiques exposées précédemment.

2.21 Altération de la division cellulaire.

2.211 Traitement physique

L'irradiation des cellules tumorales à une dose suffisante inhibe leurs mécanismes de division et donc leur pouvoir tumorigène. Mais les cellules irradiées utilisées en immunothérapie ou en immunoprophylaxie sont inconstamment et faiblement actives, et leur efficacité dépend des conditions d'administration (en particulier, elles nécessitent souvent un adjuvant) (191,129). En effet, l'irradiation affecte la viabilité cellulaire et n'augmente pas l'immunogénicité des cellules (274), qui, d'après ALEXANDER, serait d'autant plus faible dans ce cas que les antigènes tumoraux de surface cellulaire auraient un turn-over plus important (et seraient donc susceptibles de "relarguage" rapide tandis que leur resynthèse serait inhibée par l'irradiation) (360).

TABLEAU N° 1

Techniques de modification des
cellules tumorales en vue de leur utilisation en immunothérapie active
 d'après PRAGER et coll. (266)

I ALTERATION DE LA DIVISION CELLULAIRE

1-Traitement physique

Irradiation (X, UV,), chaleur, pH non physiologique, homogénéisation (cellules éclatées), fantômes cellulaires et fragments membranaires, antigène de membrane soluble (obtenu par sonication, extraction, digestion enzymatique).

2-Réactifs des acides nucléiques

Mitomycine C, bromodéoxyuridine, iododéoxyuridine, ribonucléase.

II MODIFICATIONS CHIMIQUES OU BIOCHIMIQUES

1-Protéases

Trypsine, collagénase, papaïne, bromélaïne, ficine, pancréatine, chymotrypsine.

2-Réactifs des groupements aminés

Formaldéhyde, acide acétique anhydre, acide nitrique, fluorodinitrobenzène, dikétène, glutaraldéhyde.

3-Réactifs des groupements sulfhydriques

Iodoacétate, iodoacétamide, N-éthylmaléimide, p-hydroxymercurybenzoate.

4-Réactifs des groupements hydrocarbonés

Neuraminidase, hyaluronidase, glucuronidase, concanavaline A, phyto-hémagglutinine, périodate de sodium.

III MODIFICATIONS BIOLOGIQUES

1-Utilisation de cellules allogéniques

2-Cellules en culture

3-Traitement des cellules par une drogue antinéoplasique

4-Oncolysat viral et xénogénisation

5-Hybridation cellulaire

IV DIVERS

Leucocytes normaux dinitrophénylés, fixation d'une protéine étrangère, N-mustard-N-oxydépropylèneimide, acide p-aminobenzoïque diazoté, méthacrylate, anticorps allogéniques, virus inactivé, cellules embryonnaires.

Le chauffage modéré, à des températures non physiologiques, a été peu utilisé. En effet, son action est incertaine et peut entraîner des modifications de structures membranaires difficilement contrôlables, bien que dans l'hypothèse de BOURDON et HALPERN (41), la dénaturation par la chaleur de certaines protéines enzymatiques de la membrane plasmique pourrait augmenter l'immunogénicité des cellules tumorales. Dans le cas de la leucémie du chat, une expérience intéressante d'immunoprophylaxie par des cellules lymphoblastoïdes félines traitées par la chaleur (56°C pendant 3') a été faite par OLSEN et coll. (249); le traitement calorique n'a dans ce cas d'autre but que d'inactiver le FeLV (Feline Leukaemia Virus) produit par ces cellules, sans affecter leur viabilité ni l'expression de l'antigène FOCMA (Feline OnCoronavirus associated Membrane Antigen), (153).

La purification des antigènes tumoraux, qu'elle soit partielle (fantômes cellulaires, membranes) ou plus poussée (extrait antigénique soluble) fait l'objet de nombreuses recherches. D'un point de vue théorique, toute tentative de purification risquera d'entraîner des modifications, tant dans les structures quaternaires et tertiaires des molécules porteuses des sites antigéniques, que dans leur association, à la surface de la cellule, avec des structures non antigéniques par elles-mêmes, mais susceptibles de jouer un rôle dans l'immunogénicité de l'antigène tumoral. Ceci pourra faire préférer l'utilisations de fantômes (71), bien que des extraits solubles aient pu se révéler actifs en immunoprophylaxie (227). Cependant, l'inconstance des résultats observés, facilitation, protection ou effet nul, avec des préparations antigéniques in vitro (15,201, 117,273), la relative faiblesse d'activité par rapport à l'utilisation de cellules entières (87,222), la nécessité éventuelle de les modifier chimiquement (169) ou immunologiquement (92), l'importance du facteur dose nécessaire à l'obtention d'une réponse (259), et même la non spécificité de la réponse observée dans certains modèles (300), en font un domaine de recherche extrêmement intéressant, mais, pour l'instant, peu utilisable en clinique humaine. Les mêmes difficultés sont d'ailleurs rencontrées dans l'induction de rejet de greffe non tumorale (272).

2.212 Réactifs des acides nucléiques.

Le prétraitement de cellules tumorales in vitro par la mitomycine C, en inhibant la synthèse du DNA, annihile leur pouvoir tumorigène tout en leur conservant une activité immunogène (360,301, 21). Mais l'utilisation de réactifs nucléiques seuls a été peu développée, car l'immunogénicité de cellules ainsi traitées est peu modifiée ou même diminuée. De plus, la concentration de mitomycine C nécessaire au blocage complet de la division cellulaire in vivo de toutes les cellules doit souvent être forte (de l'ordre de 200µg/ml); les lavages qui suivent ce traitement, sont insuffisants pour nettoyer les surfaces cellulaires: une partie de la drogue reste fixée et disponible pour une éventuelle inactivation d'un lymphocyte venu reconnaître la cellule tumorale (DORE, communication personnelle).

2.22 Modification chimique ou biochimique.

L'hypothèse à l'origine des expériences de modifications des cellules tumorales par un agent chimique ou biochimique est la suivante: l'addition ou la soustraction d'une molécule, non antigénique par elle-même, pourrait entraîner une augmentation de l'immunogénicité ayant pour double effet de permettre à l'hôte receveur de rejeter des cellules ainsi modifiées, et d'acquérir une immunité solide contre sa propre tumeur.

2.221 Protéases.

Bien qu'elles soient susceptibles d'entraîner une augmentation de l'expression d'antigènes de surface cellulaire, les protéases, comme la papaïne (61), sont peu utilisées comme agents modificateurs des cellules tumorales en immunothérapie active. DORE et coll. ont, d'ailleurs, mis en évidence un effet facilitant du prétraitement de cellules du lymphome de Gross par la papaïne, dans un essai d'immunothérapie active chez la souris C57BL/6 (82). Les protéases sont, au contraire, surtout utilisées pour extraire des antigènes tumoraux sous forme soluble (87).

2.222 Réactifs des groupements aminés.

Ce sont essentiellement des agents fixateurs, comme le formol et la glutaraldéhyde. Les cellules tumorales ainsi traitées perdent leur capacité tumorigène mais peuvent conserver, selon la durée d'exposition et la concentration en formaldéhyde, soit uniquement les antigènes tumoraux (194,333), soit également les antigènes d'histocompatibilité (193). Le traitement de cellules tumorales allogéniques infectées par le virus SV40 par la glutaraldéhyde peut assurément leur permettre d'immuniser un animal contre une tumeur syngénique induite par ce même virus (338). Mais il entraîne par contre une réponse non spécifique (puisque'inductible de la même manière par des cellules normales traitées), dans un système syngénique (120,121). D'autres réactifs des groupements aminés tel le fluorodinitrobenzène se sont révélés peu actifs en immunoprévention, probablement parce que le nouveau groupement hapténique ainsi fixé est un haptène "fort" qui mobilise trop les réactions immunitaires de l'hôte au détriment des antigènes tumoraux (265), encore que d'autres hypothèses puissent être émises.

2.223 Réactifs des groupements sulfhydriques.

L'iodoacétate et l'iodoacétamide se fixent sur les groupements sulfhydriques à la surface de la cellule, et sont considérés comme des haptènes "faibles". Ils ont été étudiés surtout par PRAGER et coll. dans différents modèles de tumeurs syngéniques de la souris (ascite 6C3HED, lymphome Pl798, leucémie Ll210) et se sont révélés capables d'entraîner une immunoprévention de ces différentes tumeurs, à condition d'utiliser des quantités de cellules traitées assez importantes (10^7 à 10^8 cellules par injection). Les cellules une fois traitées, peuvent se conserver à $+4^{\circ}\text{C}$ plusieurs semaines sans altération de leur immunogénicité. Leur efficacité est nettement supérieure aux cellules irradiées ou traitées à la mitomycine C (264-267).

2.224 Réactifs des groupements hydrocarbonés.

La neuraminidase, extraite principalement de *Vibrio Cholerae*, semble représenter actuellement un des meilleurs moyens

d'obtenir des cellules tumorales utilisables en immunothérapie qui répondent aux caractéristiques exposées plus haut. Des nombreuses études effectuées sur cette enzyme, on peut retenir :

- les conditions physicochimiques optimales de son action sont maintenant assez bien établies (cf tableau n° 2),

- elle est capable de diminuer et même d'annuler la tumorigénicité des cellules, et d'augmenter de façon appréciable leur immunogénicité, sans altérer leur viabilité (24); mais une faible tumorigénicité persiste aux concentrations enzymatiques et au temps d'incubation optimum pour que l'immunogénicité obtenue soit maximale (310). La greffe de cellules tumorales, traitées par la neuraminidase et devenues non tumorigènes chez des animaux normaux, entraîne cependant une croissance tumorale indéfinie chez l'animal préalablement immunodéprimé: la diminution de la tumorigénicité peut donc être rattachée en partie à l'augmentation de l'immunogénicité des cellules ainsi traitées (63,275);

- la tumorigénicité résiduelle peut être complètement supprimée par un traitement complémentaire à la mitomycine C ou par l'irradiation, mais la séquence des traitements semble primordiale: le traitement à la mitomycine C, effectué en même temps ou après celui à la neuraminidase, semble préférable (281). La neuraminidase peut en effet diminuer l'effet anti-mitotique de la drogue si cette dernière est appliquée avant (303). De même certains échecs d'immunoprévention (119) ou d'immunothérapie (82) à l'aide de cellules tumorales lourdement irradiées (10 000 à 12 000 R), puis traitées à la neuraminidase, pourraient être dus à l'inefficacité de la neuraminidase sur une cellule irradiée; par contre l'irradiation modérée (1500 R) postérieure au traitement enzymatique permet aux cellules d'être rejetées et actives en immunoprévention (275);

- de nombreux essais d'immunothérapie active dirigée contre une tumeur, utilisant des cellules syngéniques (281-283,22, 25,189) ou autologues (301), ou dirigée contre des métastases (226) ont donné des résultats positifs très encourageants;

- l'action de la neuraminidase a pu être directement reliée au clivage de l'acide N-acétylneuraminique qu'elle entraîne (inactivation par la chaleur ou par addition d'acide sialique au moment de la réaction (91); le mécanisme de son action est encore mal démontré, mais des cellules traitées par la neuraminidase ont

TABLEAU N° 2

Conditions physicochimiques optimales
de traitement par la neuraminidase purifiée de cellules tumorales
en vue de leur utilisation en immunothérapie active.

- pH 5,5 en tampon acétate de sodium

- présence d'ions Ca^{++}

- 60 minutes à 37°C

- 25 à 50 unités/ $2,5 \cdot 10^7$ /ml (1 unité correspondant à l'activité enzymatique qui hydrolyse 1 μ g d'acide N-acétylneuraminique des substrats orosomucoïde ou N-acétylneuraminosyllactose en 15 minutes.)

leurs charges électronégatives diminuées, leur déformabilité et leur susceptibilité à la phagocytose augmentées (320); l'expression de leurs antigènes de membrane et leur sensibilité à la lyse par le complément et un anticorps sont également accrues (42,288,347). Cette augmentation de l'expression des antigènes est probablement due non pas à une élévation réelle de leur nombre, mais plutôt à une modification stérique et électrique de la membrane, qui faciliterait les interactions antigènes-anticorps (91); cependant la régénération de l'acide sialique qui se réalise essentiellement par le turn-over des macromolécules de surface est assez rapide en 8 (287) à 16-30h (288) et c'est pendant cette courte période que le système immunitaire de l'animal doit reconnaître la cellule tumorale comme plus immunogène. Par ailleurs, des anticorps de type IgM provenant tant de sérums normaux humains que de certaines lignées de souris, sont cytotoxiques pour des cellules traitées à la neuraminidase (287). De plus SEDLACEK et coll. ont pu démontrer que cette enzyme, après quatre lavages, est encore détectable à leur surface, soit par un antisérum spécifique soit par son activité (302). Finalement, certains anticorps naturels se sont révélés absorbables par la neuraminidase fixée sur n'importe quel support (érythrocyte, cellule allogénique ou hétérologue, particule de polyhydroxyméthylène) ou même sous forme soluble, mais non absorbables par l'enzyme inactivé par la chaleur (177). Dirigés contre des cellules traitées à la neuraminidase, ou contre l'enzyme elle-même, ces anticorps naturels, par ailleurs capables d'armer des macrophages péritonéaux provenant d'animaux non immuns, jouent-ils un rôle ? Sont-ils responsables de la perte de la tumorigénicité des cellules en entraînant leur destruction précoce via les macrophages ? Le nouvel antigène "décrypté", ou la neuraminidase ainsi recouverte d'anticorps, joueraient-ils le rôle de porteur reconnu permettant une meilleure réponse contre l'"haptène-antigène tumoral" ?

2.23 Modifications biologiques.

Comme la neuraminidase, bien que les différentes techniques en aient été moins bien explorées, elles représentent une des meilleures voies d'approche de l'immunothérapie anti-tumorale applicable à l'homme.

2.231 Utilisation de cellules allogéniques.

Elle repose sur une triple hypothèse: les cellules allogéniques ont ou doivent avoir des antigènes tumoraux communs à la tumeur considérée, la présence d'antigènes d'histocompatibilité étrangers au receveur doit lui permettre, d'une part, de rejeter ces cellules, et d'autre part, d'acquérir ou d'augmenter son immunité spécifique vis-à-vis des antigènes tumoraux communs qui lui sont présentés d'une manière que l'on espère plus immunogène (effet allogénique). Dans certains modèles expérimentaux, tel que les leucémies viro-induites, qui possèdent des antigènes tumoraux de transplantation communs, l'immunoprophylaxie (323,81), ou l'immunothérapie (217) de leucémies induites par le virus de Gross par des cellules allogéniques se sont révélées efficaces. Mais, SCHAUF et coll., utilisant, comme modèle, l'induction de tumeur chez le marmoset par le virus du sarcome de Rous (RSV) a montré que les cellules autologues étaient plus efficaces en immunoprévention que des cellules allogéniques infectées par le RSV (297). Par ailleurs, l'immunisation de rat WKA par des tumeurs allogéniques non reliées est susceptible de les protéger contre une tumeur WKA de façon tout à fait non spécifique et limité dans le temps (187). En conséquence, l'interprétation des multiples résultats d'essais d'immunothérapie active de cancers humains par des cellules allogéniques doit tenir compte de ces faits (185,219,165,240).

2.232 Utilisation de cellules tumorales après leur passage in vitro.

COHEN et coll. ont observé que la tumeur Py89 induite par le virus polyome, perdait progressivement son pouvoir oncogène après plusieurs passages in vitro. Au 110^e passage in vitro, la lignée avait perdu toute tumorigénicité, mais elle était capable d'immuniser une souris syngénique contre la tumeur maintenue in vivo, en permettant à cet animal de rejeter parfois cette tumeur (60). Plus récemment dans le système de leucémie féline, l'inoculation à des chats de cellules d'une lignée lymphoblastoïde en culture, répliquant le FeLV, non leucémogène, mais exprimant l'antigène FOCMA, entraîne leur protection contre l'inoculation du virus leucémogène

FeLV (174). Cependant, dans un autre système syngénique de tumeur induite par le virus du sarcome murin (MSV), une immunoprotection a pu être obtenue par immunisation avec des cellules fibroblastiques syngéniques, que celles-ci soient ou non infectées par ce virus: cette absence de spécificité de la réponse fut observée bien que des anticorps spécifiques de cellules infectées par la MSV n'aient été produits qu'après l'immunisation avec les cellules infectées (144). Ces différentes expériences mettent en relief la nécessité de vérifier l'expression et la spécificité des antigènes des cellules en culture avant d'envisager leur utilisation en immunothérapie active. A cette condition près, les cellules en culture, autologues ou non, peuvent fournir une grande quantité de matériel, dont l'immunogénicité pourrait bien être appréciable (327). Cette dernière idée est à rapprocher des expériences dans lesquelles CIKES a démontré qu'un lymphome de Moloney cultivé in vitro, avait l'expression de ses antigènes H2 diminuée et celle de ses antigènes associés au virus de Moloney augmentée de 5 à 10 fois par rapport aux cellules maintenues in vivo (57).

2.233 Traitement de cellules tumorales par une drogue anti-néoplasique.

Bien que cette technique soit difficilement envisageable chez l'homme, elle présente à la fois un problème théorique et pratique non dénué d'intérêt. Elle repose sur l'obtention de sous-lignées de lymphome syngénique par traitement de ce lymphome avec une dose inefficace de DTIC chez des animaux syngéniques immunodéprimés par le cyclophosphamide. De telle sous-lignées maintenues chez des animaux immunodéprimés ne sont plus tumorigènes chez des animaux syngéniques normaux, mais elles sont capables d'immuniser ces mêmes animaux contre l'injection ultérieure de cellules lymphomateuses de la lignée parentale (50,34). Cependant, cette réactivité croisée entre les cellules des sous-lignées et de la lignée parentale n'existe pas toujours, et de plus les premières acquièrent le plus souvent des antigènes totalement différents (244,242). BORSOS et coll. ont par ailleurs commencé une étude du rôle éventuel du prétraitement de cellules tumorales in vitro par des substances antinéoplasiques, ou in vivo par injection intra-tumorale, afin de vérifier si de tels traitements, en fonction de la drogue utilisée,

peuvent entraîner une augmentation de l'immunité antitumorale (37). En conclusion, dans le cadre plus général de la thérapeutique anticancéreuse, une chimiothérapie peut donc fort bien modifier la spécificité des antigènes tumoraux au point de rendre la cellule tumorale tout-à-fait différente sur le plan immunologique de la cellule avant traitement; cet élément pourra perturber un traitement immunologique ultérieur.

2.234 Oncolysat viral et xénogénisation.

L'infection d'une cellule maligne, qui peut être autologue, par un virus lytique, myxovirus, arbovirus, poxvirus (206), ou non, rhéovirus (189), virus de Friend (141) et de Rauscher (5) permet l'introduction, à sa surface, d'antigènes viraux qui sont facilement reconnus et déclenchent une forte réponse immune chez le receveur. La tumorigénicité des cellules infectées est ainsi très diminuée. Cependant, l'utilisation d'oncolysats viraux, décrits par LINDENMANN et coll. (206) ou la xénogénisation (infection par un virus non lytique) des tumeurs, introduite par KOBAYASHI et coll. (186), se heurte à deux problèmes: le virus doit être capable d'infecter la cellule tumorale et il ne doit pas être dangereux pour l'hôte (36,321). L'immunogénicité de cellules malignes ainsi infectées est telle qu'elle a permis leur utilisation avec succès, tant en immunoprévention (36) qu'en immunothérapie (141), l'infection virale pouvant même être effectuée in vivo (189). Cette augmentation de l'immunogénicité ne semble pas liée à une augmentation de l'expression des antigènes tumoraux (188), mais plutôt à leur juxtaposition avec des antigènes viraux sur une même membrane, car l'injection simultanée de virus et d'extrait membranaire tumoral entraîne une réponse identique à l'extrait injecté seul (35). Dans le cas de la xénogénisation, la cellule tumorale infectée doit conserver son potentiel mitotique, puisque l'irradiation inactive son effet immunogène (5). Le pouvoir infectieux du virus présent dans l'oncolysat, n'est pas nécessaire puisque l'inactivation par les UV (35) ou par le formol (206), n'a aucun effet sur l'immunogénicité. De plus, le principe immunogène de l'oncolysat viral semble bien ne pas être le virus lui-même, mais la présence simultanée sur des fragments membranaires d'antigènes viraux et tumoraux (36,147). L'état immunolo-

gique de l'hôte vis-à-vis du virus infectant, influe sur la réponse antitumorale, puisque la préimmunisation par le virus augmente la réponse (206), tandis que l'injection simultanée d'anticorps dirigés contre le virus de Newcastle et de l'oncolysat de ce même virus facilite la croissance de cellules malignes ultérieurement injectées (321). La xénogénisation tumorale et l'oncolysat viral semblent donc pouvoir être très actifs (134) et surtout facilement envisageables en thérapeutique humaine: en effet, il suffit de mettre en culture des cellules tumorales, de les infecter in vitro par un virus non dangereux pour l'homme, et de les réinjecter en système autologue ou allogénique, comme l'ont réalisé sur l'ostéosarcome de l'enfant GREEN et coll. (143).

2.235 Hybridation cellulaire.

L'hybridation somatique d'une cellule normale et d'une cellule maligne, le plus souvent histoincompatible, permet d'annuler la capacité tumorigène de cette dernière, l'hybride étant immunogène (104). De tels hybrides sont d'ailleurs tumorigènes chez la souris nude athymique; l'absence de tumorigénicité chez l'animal normal doit donc être rattachée à une augmentation de l'immunogénicité (204). Les hybrides peuvent être obtenus soit spontanément par simple coculture - mais ils peuvent alors rester tumorigènes - soit par traitement des cocultures avec du virus Sendai inactivé (334). Leur maintien en culture se heurte à la délétion chromosomique, l'hybride perd progressivement les chromosomes normaux et réacquiert par là-même sa tumorigénicité (334,103,256). L'hybridation peut se faire soit avec des cellules normales syngéniques ou allogéniques en culture, car l'histoincompatibilité n'est pas une condition nécessaire: l'hybride est immunogène et non tumorigène chez l'animal F1 histocompatible (256). Le mécanisme en est inconnu; l'antigène tumoral peut avoir son expression augmentée (173), mais celle-ci reste parallèle à l'expression sur la cellule d'origine (334). Cependant, l'utilisation d'hybrides en immunoprotection ou en immunothérapie s'est révélée efficace dans certains modèles expérimentaux, où d'autres techniques n'avaient donné que peu de résultats, comme la protection de souris C57BL/6 contre la tumeur EL4 (256) ou d'une souris A9 contre une tumeur induite par le virus polyome (104).

2.24 Techniques diverses.

D'autres méthodes de modification des cellules tumorales ont été décrites, mais il ne sera fait mention pour mémoire que deux d'entre elles. D'une part, certaines tumeurs expriment des antigènes embryonnaires, des auteurs ont donc réalisé une immunoprévention par l'injection de cellules embryonnaires (59,276,340), non retrouvée par certains (257). D'autre part, quelques tumeurs étant viro-induites, un vaccin obtenu par inactivation chimique ou physique du virus oncogène a été utilisé avec succès dans la prévention du lymphome de singe dû au virus Herpès Saïmiri (195), de la leucémie du chat (361) et dans celle de la leucémie spontanée AKR (166). Cependant, dans le premier cas, l'immunisation n'est efficace que contre l'injection de virus et non pas contre l'injection de cellules tumorales; et dans le troisième, le mécanisme est probablement identique bien que plus complexe: d'une part, la leucémie spontanée de la souris AKR est due en partie à l'infection de proche en proche des cellules lymphoïdes, et d'autre part, les antigènes tumoraux sont, du moins en partie, des constituants du virus (20). De ces expériences, KELLOFF et coll. (186) émettent l'hypothèse de travail suivante: un oncornavirus inactivé pourrait être utilisé comme vaccin contre des tumeurs spontanées qui contiennent naturellement des virus de type C (qu'ils soient oncogènes ou non), ou contre ces mêmes tumeurs que l'on infecterait par un virus de type C. Malheureusement, chez l'homme, un seul cancer semble viro-induit, la tumeur de Burkitt, et de toutes manières, une vaccination ne serait envisageable que pour une population définie, dite à "haut risque".

3. *Conditions d'administration de l'agent immunogène (voie, nombre, chronologie et dose des injections, addition d'adjuvant) en relation avec les caractéristiques propres de l'hôte (capacité de réponse) et de sa tumeur (taille).*

Au cours des tests d'efficacité des différents modes d'obtention d'un agent immunogène tumoral, les conditions d'administration sont apparues très importantes. Leur détermination en immunoprévention permet en partie de prévoir celles qui prévaudront

en immunothérapie active. De plus, les caractéristiques propres de la tumeur, en particulier sa croissance et sa taille au moment de l'immunothérapie active s'avèrent primordiales.

3.1 Conditions d'administration de l'agent immunogène.

3.11 Voie d'injection.

Les immunologistes ont maintes fois démontré l'importance de la voie d'injection d'un antigène dans la qualité et la force de la réponse immune. Ainsi, une immunisation intrapéritonéale par des cellules SL2 irradiées, de souris syngéniques DBA/2, leur confère-t-elle une bonne prévention contre cette tumeur lorsqu'elle est induite par injection de cellules dans le péritoine, mais non pas lorsqu'elle est induite sous la peau. Par contre, une immunisation sous-cutanée protège les souris quel que soit le compartiment péritonéal ou sous cutané dans lequel la tumeur est induite (79). Dans d'autres modèles, une immunisation intervenant dans le même compartiment que le lieu d'injection de la tumeur, est meilleure qu'une immunisation faite dans un autre compartiment (264,266,129).

Deux types d'immunité sont donc mises en jeu, une locale (immunisation in situ) et une systémique: une bonne immunité locale est souvent facile à obtenir, mais la forte tendance des tumeurs à la dissémination métastatique oblige le cancérologue à rechercher en priorité l'induction d'une immunité systémique. Par ailleurs, certaines voies d'administration sont réputées tolérogènes; mais dans ce cas, la présentation de l'antigène est critique: une présentation particulière n'est pratiquement jamais tolérogène, tandis qu'une présentation soluble, dépourvue de macromolécules, injectée par voie générale, conduit le plus souvent à une facilitation. (Nous retrouvons donc l'importance d'une présentation de l'antigène tumoral sur une structure membranaire.)

3.12 Nombre et chronologie des injections.

La protection d'une souris A9 contre la tumeur syngénique SEWA, apportée par une cellule hybride, est faible après une seule injection, mais forte après trois (104). Cet accroissement de

l'efficacité de l'immunoprévention va en général de pair avec l'augmentation du nombre des injections (129), bien que le nombre optimal puisse varier selon la tumeur étudiée (266).

Lors d'expériences d'immunothérapie, le traitement par des cellules modifiées par l'iodoacétamide, n'est efficace qu'après quatre injections au moins (266). Mais dans d'autres modèles expérimentaux le meilleur résultat thérapeutique est déjà obtenu après une seule injection (213,190).

De même, la chronologie des immunisations doit être optimale, mais varie selon le modèle expérimental: l'intervalle entre deux injections va d'une à deux semaines (266), le temps qui sépare la dernière immunisation de la transplantation de la tumeur doit être bref (178) ou supérieur à une dizaine de jours (22,41).

3.13 Dose_d'agent_immunogène.

La recherche d'une quantité optimale d'agent immunogène à injecter doit se faire pour chaque modèle. Un extrait antigénique à faible dose ou à forte dose peut être inefficace (259). De même, un nombre élevé de cellules irradiées ou modifiées par l'iodoacétamide, à injecter à chaque immunisation, donne les meilleurs résultats (191,129,266); mais 10^8 cellules traitées à la neuraminidase protègent moins bien un animal que 2.10^7 cellules (301).

3.14 Addition_d'adjuvant_de_l'immunité.

Les adjuvants augmentent fortement et de façon assez reproductible la réponse d'un organisme à un antigène, et sont donc très utilisés en immunologie. Aussi, on les utilise fréquemment pour augmenter la réponse à une immunisation antitumorale. Si, dans certains cas, la présence d'adjuvant (BCG, Corynebacterium Parvum ou LPS) n'entraîne qu'une augmentation de la réponse en immunoprévention (224,266) ou en immunothérapie active (213,129), par contre l'adjuvant peut être nécessaire pour obtenir un effet préventif (119,364) ou thérapeutique (33). Cependant des résultats contradictoires sont observés à l'intérieur même d'un seul modèle animal: l'addition de BCG à des cellules allogéniques E δ G2 porteuses d'antigènes croisés viro-induits, protège moins bien la souris AKR con-

tre le lymphome K36 syngénique (81), tandis qu'elle entraîne un certain taux de guérison lors du traitement de la leucémie spontanée AKR (217). Ainsi, là encore, selon le modèle tumoral et l'effet étudié (immunoprévention ou immunothérapie) les résultats d'une expérience ne sont pas toujours généralisables.

Enfin, bien que l'immunostimulation ne fasse pas l'objet de cette thèse, on peut en rappeler le principe: l'immunité antitumorale spécifique préexistante, pourrait être augmentée par la seule injection d'adjuvants. Cependant, si de très nombreux essais tant expérimentaux que cliniques ont été réalisés, un effet thérapeutique n'a été démontré que dans un petit nombre de cas: soit parce que les tumeurs ne sont pas assez antigéniques (19,212), soit parce que le mécanisme de cet effet ne fait pas intervenir une reconnaissance de type immunologique.

3.2 Caractéristiques propres de l'hôte et de sa tumeur.

L'immunothérapie active, dans sa finalité, s'adresse à un organisme porteur d'une tumeur qui représente la résultante d'une longue et permanente interaction mutuelle. En conséquence, la capacité d'un tel organisme à répondre à une immunisation antitumorale dépendra de ses différentes caractéristiques biologiques (facteurs génétiques, endocriniens, âge, etc...) qui seront plus ou moins modifiées de par la présence de la tumeur; et l'efficacité de cette immunisation sera également fonction des caractéristiques de la tumeur: nature (leucémie, tumeur solide), localisation dans des territoires anatomiques plus ou moins accessibles au système lymphoïde (système nerveux central), tumeur primitive ou métastase, croissance lente ou rapide, taille au moment de la thérapeutique (213). Un seul de ces paramètres est actuellement connu: l'immunothérapie n'a de chance d'être efficace que sur un nombre réduit de cellules malignes présentes au moment du traitement. Déjà, lors d'expériences d'immunoprévention, la quantité de cellules tumorales pouvant être rejetées par un animal immun ne dépasse jamais 10^5 à 10^6 (62). De même, l'immunisation active de souris DBA/2 par injections de BCG et de cellules leucémiques irradiées ne peut augmenter la survie ou le pourcentage de guérisons que chez des animaux ayant reçu au plus 10^5 cellules malignes (213). De la même manière, des cellules modifiées par la neuraminidase, ne sont susceptibles d'entraîner une

régression tumorale que si les injections immunisantes ont eu lieu avant que la tumeur n'ait atteint un diamètre supérieur à 1 cm (91).

Un traitement cytoréducteur préalable, qu'il soit chirurgical (283) ou chimiothérapique (25), peut permettre à l'immunothérapie active d'être efficace à condition que la chirurgie soit précoce (201) et totale ou sub-totale (282), ou que la chimiothérapie entraîne déjà par elle-même un petit pourcentage de guérisons (190) ou une rémission complète (26): l'importance jouée par la taille de la tumeur au moment du traitement immunologique voue à l'échec toute tentative d'immunothérapie de cancers avancés (62).

Nous avons vu que certaines techniques de modification des cellules tumorales en vue de leur utilisation en immunothérapie active, telles que le traitement à la neuraminidase, l'hybridation cellulaire, la xénogénisation et l'oncolysat viral, semblent prometteuses et susceptibles d'essais thérapeutiques humains. De plus, les délais de mise en place et la qualité de la réponse immune dépendent beaucoup des paramètres de l'immunisation et du modèle tumoral, ce qui oblige le chercheur à déterminer les conditions optimales d'expérimentation pour chaque modèle. Mais l'immunothérapie active est réservée a priori aux individus dont les défenses immunitaires sont intactes ou peu altérées, c'est-à-dire dans les premiers temps du développement tumoral.

DEUXIEME PARTIE
=====

IMMUNOTHERAPIE ADOPTIVE
=====

1. Définition et historique.

L'immunothérapie adoptive comporte l'administration de cellules lymphoïdes immunocompétentes à un sujet porteur de tumeur. Le transfert de telles cellules obtenues spécifiquement chez un donneur après son immunisation avec les cellules malignes, devrait permettre au receveur d'acquérir ou de renforcer une immunité antitumorale qui puisse entraîner le rejet de la tumeur. Ainsi, un hôte incapable de répondre à un antigène tumoral en immunothérapie active, le deviendra peut-être à la suite d'un transfert adoptif qui court-circuite les premières étapes de la réponse immune (reconnaissance de l'antigène). Si cette idée est ancienne, elle n'a pu être éprouvée chez l'animal qu'en 1962 par OLD et coll. (246), et son application à la clinique humaine n'a débutée que plus tardivement. En effet, l'efficacité d'un transfert de l'immunité est conditionnée par la persistance des cellules transférées pendant un temps suffisamment long dans l'organisme receveur. Cela implique l'utilisation de cellules histocompatibles ou à défaut homologues, précédées dans ce deuxième cas par une préparation du receveur pour retarder le rejet des cellules injectées. L'homme est donc a priori le meilleur donneur pour l'homme, mais pour des raisons d'éthique on a longtemps hésité à injecter des cellules tumorales humaines à un autre sujet. Il faut reconnaître d'ailleurs, que, en 1965, parmi les premiers essais d'immunisations humaines, le transfert de cellules mélaniques d'une fille à sa mère âgée de 80 ans fut suivi du décès de cette dernière, victime d'une greffe tumorale semi-allogénique (296). Des essais d'échange de leucocytes entre deux patients qui avaient été préalablement immunisés contre la tumeur du partenaire, apportèrent de modestes résultats cliniques, avec là encore quelques prises d'allogreffes (8,235).

Les conditions d'efficacité d'un transfert adoptif de l'immunité antitumorale sont multiples. Tout d'abord, un donneur doit pouvoir être immunisé de façon spécifique sans inconvénients

pour lui; les antigènes tumoraux doivent donc être immunogènes pour ce donneur. Le transfert doit être efficace et peu agressif pour le receveur porteur de tumeur. Or à ce niveau, existe un dilemme: le transfert ne sera un succès que si les cellules du donneur persistent pendant un laps de temps suffisant (358,108), ce que l'on peut obtenir en préparant le receveur par une immunodépression (107); mais alors, les lymphocytes transférés pourront entraîner une réaction de greffon contre hôte (RGH), et cette réaction sera d'autant plus forte que les lymphocytes auront été déjà stimulés en réaction primaire in vivo, lors de l'immunisation du donneur.

Cependant, les récents progrès de la biologie moléculaire et de l'immunologie cellulaire in vitro, permettent de penser que ces difficultés pourront être bientôt contournées. Ainsi, seront abordés successivement, parmi les différents modes d'immunothérapie adoptive les transferts cellulaires après immunisation in vivo, in vitro, et les transferts acellulaires que représentent le "RNA immun" et le Facteur de Transfert.

2. Les différents modes de transfert.

2.1 Transfert cellulaire.

2.11 Cellules immunes obtenues in vivo.

De telles cellules peuvent être rendues immunes soit chez le receveur - ce que nous appellerons immunisation interne - soit chez le donneur - et ce sera l'immunisation externe.

2.111 Immunisation interne.

Elle consiste à exploiter les phénomènes de réaction du greffon contre hôte: l'injection de cellules lymphoïdes allogéniques normales, à un hôte porteur de tumeur et immunodéprimé, va entraîner leur immunisation contre les antigènes d'histocompatibilité et peut-on l'espérer, contre les antigènes tumoraux (359,183). La RGH peut alors être bénéfique par son effet antitumoral, à condition de la contrôler ultérieurement. Cette idée fut reprise et élargie par MATHE et coll. dans le cadre d'un traitement anti-leucémique; la greffe de moëlle osseuse allogénique ou semi-compatible

pourrait permettre non seulement de détruire des cellules leucémiques, mais également de restaurer les fonctions médullaires avec des cellules saines (218). Mais, outre le fait que dans la pratique les chimères, victimes d'une RGH, sont instables, il a même été observé au moins un cas de transformation leucémique des cellules du donneur (112).

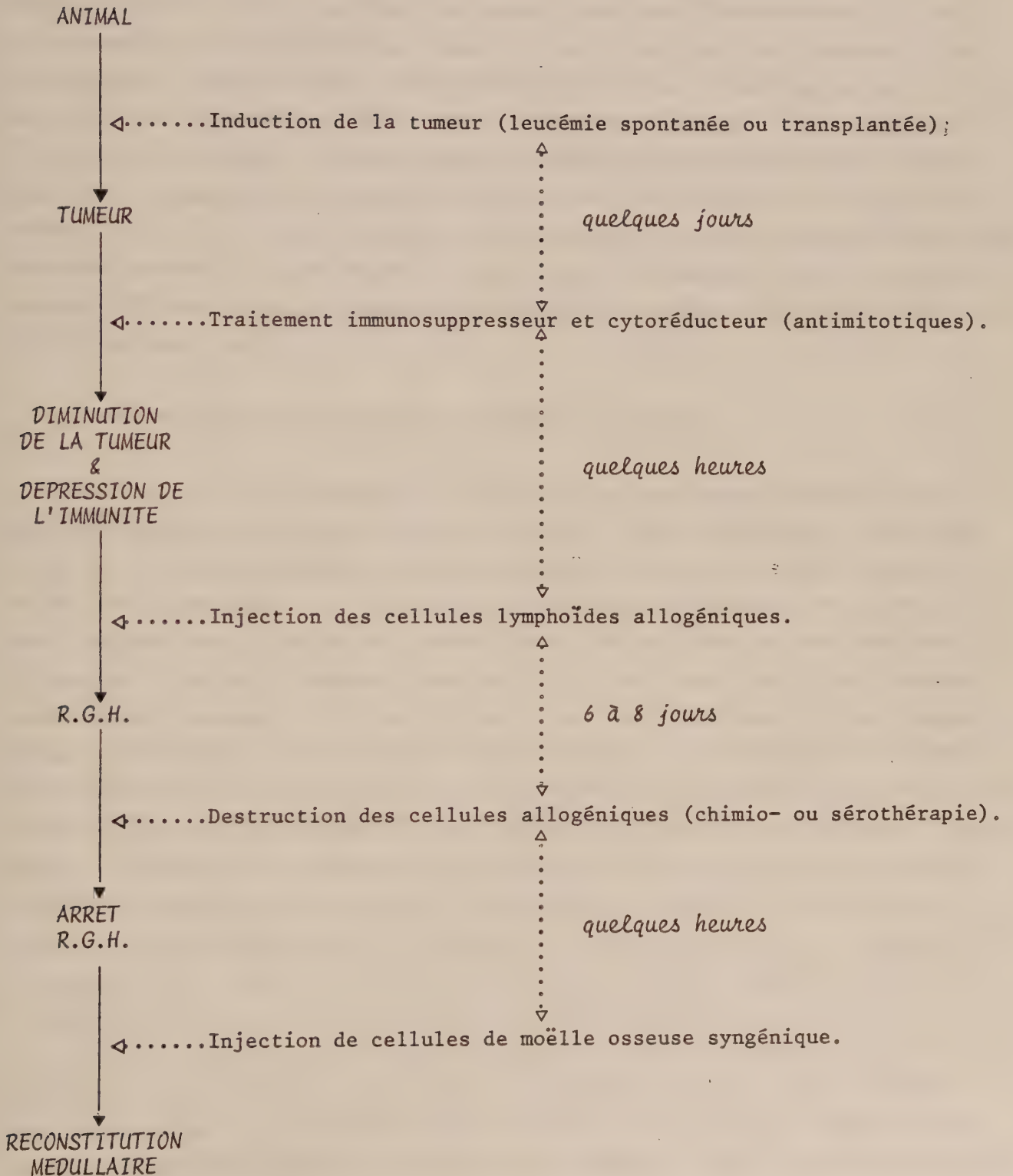
L'utilisation de modèles de leucémies expérimentales a permis de concevoir un schéma thérapeutique général qui s'est révélé plus ou moins efficace, mais qui reste assez "acrobatique" (cf schéma n° 2) (38,40,56). Le principe général est un traitement immunodépresseur initial permettant à des lymphocytes allogéniques d'entraîner une RGH, cette dernière étant contrôlée quelques jours plus tard par un traitement approprié, suivi d'une restauration médullaire externe. Mais l'induction d'une RGH, bien que nécessaire (96), n'est pas toujours suffisante pour détruire des cellules leucémiques: l'injection de lymphocytes compatibles au niveau du locus H2, mais de locus mineurs différents, induit bien une RGH, mais est inefficace contre la leucémie (39). Par ailleurs, le contrôle de la RGH par une chimiothérapie ou une sérothérapie dirigée contre les antigènes d'histocompatibilité, est relativement facile à un stade précoce (2-3 jours), mais très difficile à un stade plus tardif, les animaux mourant de toute façon, soit de leur leucémie dans le premier cas, soit de la RGH dans le second (187,40). Une dernière approche intéressante est celle de TRUITT et coll. (346) qui ont pu éviter la RGH par maintien de souris AKR en situation axéniques, et guérir leur leucémie spontanée dans 80% des cas avec un chimérisme médullaire persistant au-delà de 150 jours.

2.112 Immunisation externe.

Les cellules transférées peuvent provenir d'un animal soit allogénique soit syngénique préalablement immunisé. Quelques essais ont été effectués avec des lymphocytes allogéniques (2,136,108), et même xénogéniques (3), mais là encore se pose le problème de la RGH (95,110). Par contre, l'existence de lignées syngéniques de souris a permis quelques essais d'immunothérapie adoptive avec transfert de lymphocytes provenant d'un animal histocompatible spécifiquement immunisé contre la tumeur (243,27,109). Cependant, l'ef-

SCHEMA N° 2

Modalités d'immunothérapie adoptive par déclenchement
puis contrôle d'une réaction de greffon contre hôte (R.G.H.).



ficacité n'est perceptible que sur un nombre réduit de cellules malignes. TAKEICHI et coll. (336) ont même décrit une rupture de tolérance associée à l'immunothérapie adoptive: des rats WKA sont rendus à la naissance tolérants au virus de Gross, et ils développent un thymome induit par ce virus à l'âge de trois mois; de tels rats non seulement rejettent des cellules leucémiques syngéniques WGT-4, induites par le virus, après traitement par une immunothérapie adoptive syngénique spécifique, mais ils ne font pas de thymomes ultérieurement. Les cellules lymphoïdes n'ont pas l'exclusive de l'efficacité d'un transfert (90), des macrophages activés sont capables d'inhiber fortement l'apparition de métastases pulmonaires artificielles (cependant la spécificité de ces transferts n'est pas clairement établie) (113). Enfin, les lymphocytes syngéniques transférés doivent provenir d'un animal immun libre de tumeur, car les lymphocytes prélevés chez un animal porteur de la même tumeur entraîne une facilitation (342).

2.12 Cellules immunes obtenues in vitro.

L'utilisation de cellules syngéniques immunes étant difficilement envisageable chez l'homme, une technique d'immunisation in vitro de lymphocytes autologues contre la propre tumeur du sujet est proposée. In vitro, une stimulation secondaire spécifique des lymphocytes d'un sujet porteur de tumeur semble être réalisable: d'une part de tels lymphocytes ne détruisent pas des fibroblastes autologues normaux, et d'autre part une sensibilisation de lymphocytes autologues sur ces mêmes fibroblastes n'entraîne pas d'immunité cellulaire détectable in vitro (211). Les conditions techniques d'une telle sensibilisation in vitro sont encore mal définie; cependant, l'incubation, pendant une période de 4 à 6 jours, de lymphocytes en présence de cellules tumorales traitées à la mitomycine C plutôt qu'irradiées dans un rapport de 100:1 permet aux lymphocytes d'acquérir une immunité (47). Selon les modèles tumoraux utilisés, l'immunisation primaire in vitro de lymphocytes est (138) ou n'est pas efficace en immunothérapie adoptive (28). L'immunisation secondaire in vitro, la primaire ayant eu lieu in vivo, semble donner des résultats plus satisfaisants (28,29), sauf si les lymphocytes proviennent d'un animal porteur de la tumeur (344). Ces données préliminaires demandent à être confirmées avant d'en envisager l'appli-

cation en immunothérapie adoptive chez l'homme.

2.2 Transfert acellulaire.

L'idée d'un transfert acellulaire de type adoptif s'est développée autour de deux découvertes: le "RNA immun" et le Facteur de Transfert.

2.21 "RNA immun".

S'appuyant sur des expériences de transfert adoptif homologues, ALEXANDER et coll., ont d'abord observé que les cellules du receveur devaient intervenir dans le processus antitumoral (3): les lymphocytes transférés migrent toujours dans la rate, jamais dans la tumeur, la splénectomie, ou le blocage du système réticulo-endothélial du receveur par du carbone colloïdal diminue fortement la réponse antitumorale. ALEXANDER et coll. émirent donc l'hypothèse de l'existence d'un médiateur entre les cellules adoptées et les cellules de l'hôte, ce médiateur pouvant être du "RNA immun" tel que l'avait décrit dès 1961 FISCHMAN. Ils observèrent que la croissance tumorale est altérée même si les lymphocytes immuns allogéniques sont enfermés dans une chambre millipore, ce qui leur apporta un nouvel argument (175). Utilisant toujours le même modèle, la même équipe fit des extraits bruts contenant du RNA à partir de grands lymphocytes hyperbasophiles prélevés chez des rats ou des moutons immunisés par la moitié d'une tumeur chimio-induite localement et individuellement chez le rat. Ils les injectèrent dans le coussinet plantaire (lieu faiblement pourvu en RNAase) de l'animal qui avait fourni la tumeur. Ils observèrent de façon spécifique une diminution de la vitesse de croissance du reste de la tumeur (4). Cependant, la preuve du pouvoir antitumoral d'un "RNA immun" a été apportée par RAMMING et PILCH (270): l'extraction et la purification biochimique de RNA a été faite à partir de lymphocytes de cobayes immunisés soit contre les sarcomes BP1 ou BP4, soit contre des cellules normales de la souris hôte C3H; ce RNA a été incubé in vitro avec des lymphocytes de C3H normale, et ces dernières injectées en même temps que 10^4 cellules tumorales à une souris C3H ont entraîné un effet antitumoral important. Cet effet est spécifique, seul

le "RNA immun" anti BP1 agit sur le sarcome BP1. Le traitement par la RNAase est le seul, parmi les traitements enzymatiques possibles, à pouvoir inhiber le transfert.

Le "RNA immun" actif a une taille correspondante à un coefficient de sédimentation de 16-28S (75,299), et doit être extrait dans des conditions biochimiques très strictes. La source en est le cytoplasme des lymphocytes immuns de tous les territoires lymphoïdes (1,188). L'efficacité du transfert adoptif par le "RNA immun" passe soit par une incubation in vitro de lymphocytes autologues ou syngéniques, soit par une injection directe in vivo avec un inhibiteur de l'activité RNAasique tel que le sulfate de dextran (280,263). Le transfert local confère à l'animal une immunité systémique (298). La spécificité du transfert est grande, et il semble bien que si un RNA provenant d'un animal immunisé avec une tumeur allogénique, est capable de transférer une immunité dirigée contre les antigènes d'histocompatibilité à un lymphocyte allogénique pour la tumeur, par contre il ne transfère que l'immunité antitumorale à un lymphocyte syngénique par rapport à la tumeur (18,190). Un "RNA immun" syngénique est également actif (76). In vitro, l'incubation de cellules lymphoïdes normales avec du "RNA immun" antitumoral peut entraîner la sécrétion de lymphokines (205,80,253,150,299,352), ou l'apparition de cellules cytotoxiques (350). Le "RNA immun" semble même augmenter la réponse spécifique de lymphocytes immuns en test de culture mixte lymphocytes-cellules tumorales (78).

Le mécanisme de l'activité, et même la nature du "RNA immun" ne sont pas totalement élucidés. L'activité semble transférable à des doses de 100 à 1000 μ g de RNA pour 10^7 à 10^8 lymphocytes, la vitesse de pénétration à l'intérieur des cellules est très rapide, de l'ordre de la seconde. Quant au principe actif, si la présence de RNA est nécessaire, il pourrait comprendre également une protéine, ou l'antigène lui-même sous forme d'un complexe, comme un super-antigène (1,118).

L'intérêt théorique et pratique du "RNA immun" dans le cadre de l'immunothérapie adoptive est considérable (77,262);

- il ne nécessite pas de transfert de cellules allogéniques, donc n'entraîne pas d'allosensibilisation;
- il n'induit pas de RGH chez l'animal immunodéprimé;
- il ne provoque pas ou peu de réaction sensibilisa-

trice, (les risques de maladie secondaire sont faibles, de même q'une élimination accrue du "RNA immun");

- il ne nécessite pas l'injection d'un adjuvant;

- ni l'injection de sérum;

- il peut être plus actif que l'immunothérapie active, et ni l'extraction ni la purification des antigènes tumoraux ne sont nécessaires;

- enfin, le "RNA immun" est actif même sur des lymphocytes anergiques de l'hôte (tel que l'absence de reconnaissance, une défectuosité de l'arc afférent de la réponse immune).

In vivo, le transfert adoptif par du "RNA immun" a déjà été utilisé avec succès en immunoprévention et en immunothérapie de tumeurs syngéniques (75,262).

2.22 Facteur de Transfert.

La description en 1955 par LAWRENCE d'un extrait leucocytaire humain capable de transférer in vivo une hypersensibilité retardée, le Facteur de Transfert, fut bien entendu suivie de toutes sortes d'essais thérapeutiques dans toutes les maladies où une défectuosité de l'immunité était supposée exister, et parmi elles, le cancer. Quelques essais thérapeutiques de cancers humains ont donc été déjà réalisés (171,330,176,192), mais la spécificité et l'efficacité n'en sont pas clairement établies (11). En effet, la réalité même du Facteur de Transfert est discutée (11). Il n'a été mis en évidence que chez l'homme et, semble-t-il, chez quelques espèces animales comme le rat, le cobaye et le singe, et il est spécifique d'espèce (32). Dialysable, il aurait un poids moléculaire de 10 000 et serait sensible à la pronase. Enfin, il semble avoir quelques effets thérapeutiques dans certains déficits immunitaires, ayant en commun une défectuosité au niveau des macrophages, mais il n'agirait que si une immunité préalable, même faible, existe déjà (295,122). En immunothérapie de tumeur, du Facteur de Transfert, extrait de leucocytes provenant soit de sujets immunisés, soit de sujets ayant un test d'immunité cellulaire positif sur les cellules tumorales, a été injecté à des porteurs de tumeur; on a pu observer, chez ces malades, une positivation d'un test d'immunité cellulaire sur leur propres cellules malignes (208,46,200,48).

Le Facteur de Transfert semble donc être une voie intéressante, mais il devra faire encore la preuve de son efficacité et de sa spécificité, pour ne pas dire de sa réalité.

3. *Conditions du transfert adoptif en relation avec les réactions de l'hôte et de sa tumeur.*

L'efficacité de l'immunothérapie adoptive est soumise à des conditions assez étroites: la quantité de lymphocytes transférés et leur mode de transfert sont critiques; et cette efficacité dépend des caractéristiques de l'hôte et de sa tumeur.

3.1 Source, nombre et mode de transfert des lymphocytes immuns.

Les lymphocytes immuns responsables de transfert sont localisés spécifiquement dans certains organes lymphoïdes (339), comme le ganglion de drainage du lieu de l'immunisation (4), et ont des caractéristiques morphologiques particulières (4,139,325). Ces cellules lymphoïdes conservent leur efficacité après une irradiation stérilisante de 500 R, mais la perdent après une exposition de 2000 à 4000 R, de même qu'après leur destruction par congélation-décongélation: la viabilité de la cellule semble donc nécessaire à son activité, sans que son potentiel mitotique le soit (368,109).

Le nombre efficace de lymphocytes à injecter est en relation directe avec le lieu de l'injection. Celle-ci peut intervenir soit localement au niveau même des cellules malignes (test de Winn) soit de façon systémique. Lorsque les lymphocytes sont injectés en même temps et au même endroit que les cellules tumorales, le rapport efficace du nombre de lymphocytes immuns sur le nombre de cellules malignes peut descendre à 25/1 (164) ou même à 1/1 (367,368), le pouvoir thérapeutique restant spécifique (284,164). Par contre, les injections systémiques (intraveineuse, intrapéritonéale) exigent un nombre de lymphocytes immuns proportionnellement plus élevé, de l'ordre de 10^7 à $1,5 \cdot 10^9$ en une, deux ou trois fois (270,75,344,345, 28), l'injection d'une dose plus faible pouvant au contraire entraîner une facilitation (192).

3.2 Rôle de l'hôte, nombre de cellules tumorales sensibles à la thérapeutique.

En dehors du problème de rejet des lymphocytes allogéniques transférés, rejet qui exige un conditionnement immunosuppresseur provisoire du receveur pour que le transfert soit efficace (cf § 2.1), l'état de l'hôte est primordial. En effet par des expériences d'irradiation préalable à dose sub-léthale, couplées à des reconstitutions par des cellules non lymphoïdes (macrophages), il a été démontré que l'efficacité du transfert est liée à la présence chez le receveur d'une cellule radiosensible de type précurseur de macrophage (367,368,319,335). De plus, l'immunisation active, jointe à un transfert adoptif spécifique, augmente considérablement son efficacité (14).

Enfin comme pour toutes les formes d'immunothérapie, la taille de la tumeur est critique: le nombre de cellules tumorales doit être faible pour que l'on puisse observer leur éradication (243): un diamètre de tumeur supérieur à 2,5 cm au moment du traitement empêche toute modification de sa croissance (4); la précocité du traitement est capitale (109,336); un traitement cytoréducteur préalable est souvent nécessaire (223,27,94).

L'immunothérapie adoptive apparaît présentement moins hypothétique que par le passé, le problème de l'incompatibilité des transferts cellulaires pouvant être éludé par l'utilisation de lymphocytes autologues immunisés in vitro, ou de "RNA immuns".

TROISIEME PARTIE
=====

IMMUNOTHERAPIE PASSIVE
=====

1. Définition et historique.

La dernière étape possible de l'immunothérapie est le transfert passif de l'effecteur antitumoral. Celui-ci se résume au transfert d'anticorps ou sérothérapie. Les effecteurs cellulaires de l'immunité (lymphocytes cytotoxiques) sont en effet transférés dans le cadre de l'immunothérapie adoptive, sans que l'on puisse pour l'instant les séparer, avec un rendement suffisant, des cellules lymphoïdes qui confèrent aux cellules de l'hôte le message immun.

Le transfert, à un organisme porteur de tumeur, d'anticorps antitumoraux, produits chez un autre être vivant, a été tenté le premier. En effet, dès la fin du XIX^e siècle, HERICOURT et RICHET (156,157) essayèrent de traiter des patients cancéreux avec des antisérums préparés chez le chien et l'âne par immunisation avec des cellules malignes humaines. Cependant, malgré de nombreuses tentatives tant chez l'homme que chez l'animal, l'immunothérapie passive a été longtemps considérée comme inefficace et donc délaissée (234); d'ailleurs de nombreuses études, intervenues entre-temps, ont montré la prédominance de l'immunité à médiation cellulaire dans le mécanisme de rejet antitumoral (11). Mais la redécouverte récente des anticorps parmi les effecteurs de l'immunité antitumorale lui donne un regain d'intérêt. En plus de son activité en principe immédiate, elle présente la possibilité d'apporter à un organisme, incapable de s'immuniser contre les antigènes de sa tumeur (soit par un défaut de la réponse immune, soit par une incapacité de l'acquérir après un transfert adoptif), des anticorps spécifiques produits chez un autre organisme capable, lui, de reconnaître les antigènes tumoraux.

Cependant, de nombreux problèmes techniques se posent:

- les anticorps produits doivent être spécifiques de la cellule maligne, et ne pas reconnaître des cellules normales pour ne pas endommager ces dernières in vivo (contrôles par des tests sérologiques in vitro);

- la présence d'anticorps "naturels" ne doit pas en-

traîner une toxicité chez le receveur,

- la sensibilisation du receveur contre les protéines étrangères rendant toute réinjection ultérieure dangereuse, devra être minimisée, par exemple, par le choix du donneur (espèce), par élimination des autres protéines sériques, y compris les gammaglobulines autres que celles porteuses de l'activité anticorps spécifique.

Aussi, la production en quantité suffisante d'anticorps et leur purification seront les premières étapes de l'immunothérapie passive, suivies des différentes modalités d'administration de l'antisérum seul ou avec du complément, ou comme véhicule spécifique d'un agent cytotoxique.

2. *Obtention de l'antisérum.*

2.1 Techniques d'immunisation.

Elles reposent, la plupart du temps, sur l'injection, par diverses voies, de cellules malignes plus ou moins modifiées, additionnées ou non d'adjuvant, à un organisme syngénique, allogénique ou xénogénique. Cependant, les allo- ou xéno-immunisation donnent, en général des antisérums principalement dirigés contre les structures normales portées par la cellule maligne, et faiblement contre les antigènes tumoraux. Trois artifices ont été décrits pour tenter d'inverser ces proportions. Le premier consiste à recouvrir *in vitro* les cellules tumorales par un antisérum produit chez la même espèce que l'animal immunisé, mais dirigé uniquement contre les cellules normales: de tels anticorps masquent les antigènes normaux présents à la surface de la cellule tumorale et permettent une meilleure réponse contre les antigènes tumoraux (234,353,278). Dans le second, la réponse aux antigènes normaux est rendue impossible par l'induction d'une tolérance (234) par exemple néo-natale: des souris reçoivent, à leur naissance, les plaquettes de l'individu qui fournira les cellules leucémiques pour l'immunisation ultérieure de ces souris devenues adultes (12). Comme dernier artifice proposé pour produire des antisérums dirigés contre des antigènes tumoraux humains, la recherche de primates non hominiens, dont le groupage tissulaire ABO/HL-A soit identique au donneur de cellules malignes,

est une technique élégante, mais elle nécessite une infrastructure importante (332), et les groupes tissulaires humains ne sont pas tous représentés chez les primates.

Enfin, dans quelques cas, on a pu utiliser des sérums de sujets normaux contenant des anticorps antitumoraux soit de façon naturelle (DORE et coll. non publié), soit par immunisation foeto-maternelle probable lors d'une leucémie congénitale (74).

Cependant, la production de bons antisérums utilisables pour une sérothérapie reste soumise à la recherche de l'animal le plus apte à bien répondre aux antigènes tumoraux et à l'obtention de conditions optimales d'immunisation.

2.2 Purification de l'antisérum.

Il existe plusieurs étapes de purification: la première est, sans nul doute, l'élimination de toute réactivité contre des antigènes normaux qui sont susceptibles d'entraîner des phénomènes de toxicité, rénaux en particulier (234). Pour y parvenir, deux grands types d'absorption sont utilisés: l'absorption in vitro et l'absorption in vivo. La plus anciennement connue est l'absorption de l'antisérum in vitro sur des cellules normales provenant de divers organes; elle nécessite pour être complète des manipulations répétées et un très grand nombre de cellules. Par contre, l'injection in vivo d'une quantité d'antisérum, dont la toxicité a été affaiblie par une absorption in vitro, dans un organisme normal, permet de se débarrasser souvent complètement des réactivités dirigées contre les structures normales, tout en récupérant dans le sang de l'animal, et ce de façon surprenante, la quasi totalité des anticorps spécifiquement dirigés contre les antigènes tumoraux (140).

Une fois éliminés les anticorps indésirables, la purification des gammaglobulines permet de limiter la quantité et la diversité des protéines injectées, et de diminuer ainsi considérablement les risques d'une maladie sérique (73).

L'idéal serait, bien entendu, la purification des seuls anticorps spécifiques, par utilisation d'immunoabsorbants contenant les antigènes tumoraux purifiés (231), mais ces techniques sont complexes et leur rendement encore relativement faible.

3. Modalités d'utilisation.

3.1 Antisérum natif: immunothérapie passive proprement dite.

3.11 Sans source de complément exogène.

D'un point de vue théorique, l'immunothérapie passive a plus de chances d'être efficace sur des cellules malignes accessibles par le torrent circulatoire, telles que les cellules leucémiques et les cellules circulantes, précurseurs des métastases (234). Aussi, les essais d'immunothérapie passive chez l'animal ont été réalisés essentiellement sur des leucémies ou des tumeurs ascitiques (247,278). Parmi les essais effectués sur des tumeurs solides, certains ont été effectués sur des tumeurs artificielles induites par greffe sous-cutanée de cellules leucémiques (140,318). D'ailleurs, les lymphomes expérimentaux sont manifestement les mieux connus sur le plan des antigènes sérologiquement définis, et ont de ce fait la préférence des expérimentateurs.

La cible de la sérothérapie préventive est parfois l'agent viral oncogène (196,167).

Les caractéristiques de l'antisérum injecté sont importantes: l'activité in vivo peut dépendre de l'espèce animale productrice (159), les sérums isologues sont en général peu actifs (202), l'état de purification de l'antisérum intervient également (102,252). Les anticorps sont le plus souvent dirigés contre des antigènes tumoraux, mais parfois, contre des molécules normales d'expression particulière à la surface de certaines cellules malignes, comme l'alpha-foetoprotéine (228) ou l'Ig E (58); une immunothérapie inversée a même été réalisée par injection de l'antigène spécifiquement reconnu des immunoglobulines monoclonales de plasmocytomes (254,255).

L'effet de la sérothérapie semble immédiat (106,318). Mais, il peut être quelquefois inverse, la croissance étant alors facilitée: bien démontrée dans le système de l'allogreffe tumorale (151,180,181), dans lequel les immunoglobulines responsables sont des Ig G₁ (88,163), les Ig G₂ (99) ou toutes les classes (293). Cet effet facilitant dépend de la quantité d'anticorps injectée, une faible quantité est facilitante (180,293); cet effet est parfois

attribué à la formation de complexes entre l'anticorps injecté et de l'antigène soluble (89). Cependant, le pouvoir facilitant d'un antisérum n'est pas toujours aisé à démontrer en allogreffe tumorale (45,370), et dans les modèles de transplantation tumorale syngénique très peu d'expériences probantes ont mis en évidence une facilitation (62,202): en utilisant des sérums d'animaux porteurs de tumeur et dits progressseurs, donc susceptibles de contenir plutôt des complexes antigène/anticorps, un effet facilitant a pu être observé (31,261). Le risque de facilitation, lors d'une immunothérapie passive, doit être connu, mais non surestimé.

Enfin les guérisons par immunothérapie passive ne sont généralement pas suivies d'une immunité antitumorale acquise définitivement ou temporairement (128,247,326,369).

3.12 Avec addition de complément exogène.

L'addition de complément exogène, lors d'essais d'immunothérapie passive, peut augmenter significativement son efficacité (84,234), elle peut même être nécessaire à son expression (237). Mais ce complément doit être compatible avec l'antisérum utilisé, car les compléments de certaines espèces sont plus ou moins actifs avec les anticorps d'une autre espèce, tant in vivo qu'in vitro (84,234,142).

L'efficacité accrue, engendrée par l'addition de complément exogène, est recherchée pour pallier une insuffisance de complément endogène, qualitative (déficience en C5 de certaines lignées de souris (182), ou quantitative, la sérothérapie nécessitant une grande quantité de complément immédiatement disponible (234). Cependant, il semble que l'addition de complément modifie profondément la cinétique de disparition de l'anticorps injecté en la raccourcissant notablement et ce, même chez l'animal normal (84-86); le mécanisme en serait l'augmentation de la fixation des anticorps antitumoraux sur des antigènes normaux par une réaction croisée partielle (83).

Le mécanisme d'action du complément lors d'une sérothérapie reste inconnu; on peut cependant supposer que la lyse directe de la cellule tumorale intervient probablement peu, mais que les phénomènes de chimiotactisme et d'opsonisation jouent un grand rôle (182).

3.2 Antisérums, véhicule spécifique d'un agent cytotoxique.

Dès 1906, EHRLICH (93) proposa d'utiliser des molécules ayant une affinité tissulaire particulière pour véhiculer des agents cytotoxiques. Il est donc tentant d'utiliser des anticorps dirigés spécifiquement contre des antigènes tumoraux comme transporteurs. Trois types d'agents cytotoxiques ont été préconisés: les isotopes radioactifs, les toxines et les drogues antinéoplasiques.

3.21 Transport d'isotopes radioactifs.

Le couplage d'immunoglobulines à activité anticorps, à un isotope de l'iode tel que ^{131}I ou ^{125}I est facile à faire. L'injection in vivo d'un tel complexe, qui conserve son activité anticorps, est suivie d'une nette localisation préférentielle dans les organes où les antigènes sont présents (17,172,337), mais pas toujours (268). L'utilisation, comme moyen diagnostique, d'un tel conjugué est même envisagée (251).

Un seul essai thérapeutique a été décrit chez la souris par GHOSE et coll. (127). Les cellules tumorales ascitiques ont été injectées par voie intrapéritonéale, de même que le conjugué ^{131}I -anticorps. Un effet curatif important a été observé, même si le traitement était tardif (24, 48, ou 72 heures), pour peu que la quantité de conjugué injectée ait été suffisante. Les anticorps non couplés, ou des immunoglobulines normales couplées sont par contre restés inefficaces. Par ailleurs, l'étude théorique d'une telle thérapeutique montre qu'il est tout à fait possible de délivrer une dose de 500 R de rayons γ (^{131}I , ^{133}I) par cellule, avec l'intermédiaire d'un anticorps, et ce, en supposant que seule la dose correspondante à une demi-vie sera délivrée. Cette étude théorique fait cependant abstraction de la persistance ou non du complexe à la surface de la cellule, persistance qui est limitée par des phénomènes de dégradation de l'anticorps. Enfin, le nombre de sites antigéniques par cellule serait 100 fois plus grand que le nombre de complexes isotope-anticorps nécessaire (221). De plus, la déiodination in vivo est faible (245).

Le mécanisme de la destruction d'une cellule par un complexe isotope-anticorps semble double: d'une part l'irradiation

directe endommage les cellules, et d'autre part, l'anticorps aurait un effet synergique (234,292) bien qu'on ne le retrouve pas toujours (130).

Cependant, certains obstacles sont encore à surmonter. En particulier, une partie non négligeable des conjugués est captée par le foie, la rate, le poumon (130) et, durant le transport par le sang, le radioélément émet des rayonnements susceptibles d'endommager des cellules saines se trouvant à proximité. Une dernière approche, visant à contourner ces difficultés, est l'utilisation d'isotopes non radioactifs comme le $^{10}_5\text{B}$, qui sous bombardement de neutrons externes se décompose alors en ^7_3Li , libérant des particules α très localisées et de grande énergie (209).

3.22 Transport de toxines.

En 1970, MOOLTEN et COOPERBAND (232) couplèrent de la toxine diphtérique à un anticorps. Ce conjugué s'avéra très toxique pour les cellules porteuses de l'antigène correspondant, et peu pour d'autres cellules. La toxine diphtérique, hautement inhibitrice de la synthèse protéique des cellules de mammifères, conserve donc, après le couplage, son site de toxicité, tout en ayant perdu son site de fixation membranaire qui est remplacé par l'activité anticorps du complexe (233). Des essais thérapeutiques expérimentaux sur des cellules tumorales recouvertes d'antigènes artificiels (229), ou sur une tumeur induite par le virus SV40 (231), furent suivis de quelques survies prolongées et/ou de quelques guérisons. La toxine diphtérique n'est pas la seule utilisable (116,233).

Cependant, d'une part une contamination par de la toxine libre existe toujours, ce qui est un risque pour l'animal; et d'autre part les animaux ont souvent des anticorps anti-toxine qui inactiveront le conjugué, ou à défaut ils s'immunisent très bien contre le complexe (230).

3.23 Transport de drogues antinéoplasiques.

Dès 1958, MATHE et coll. (216) eurent l'idée de rendre spécifique des cellules malignes une drogue antinéoplasique en la couplant à un anticorps dirigé spécifiquement contre les antigènes

tumoraux. Le couplage de diverses drogues avec des gammaglobulines est chimiquement réalisable sans trop de détérioration des activités anticorps et antinéoplasique (68,207,170,290,149), pour peu que le nombre de molécules médicamenteuses fixé par molécule d'immunoglobuline ne soit pas trop élevé (133). La toxicité générale d'un tel complexe peut être cinq fois inférieure à celle de la drogue seule (69). L'efficacité antitumorale d'un tel conjugué est difficile à établir, car elle doit être supérieure à l'activité de la drogue, ou de l'anticorps injectés seuls ou ensemble mais non couplés (68). Or, un certain nombre de travaux furent effectués avec des complexes chlorambucil-anticorps (115,131,128,133,149), avec même un essai chez l'homme (132), travaux où l'efficacité différentielle du complexe par rapport à l'injection dissociée n'était pas clairement établie. Les résultats de ces travaux furent dénigrés par DAVIES et O'NEILL (68,69), qui considérèrent que, le couplage n'étant pas covalent, une dissociation du complexe in vivo avait pu se produire. Mais de nouvelles techniques de couplage réellement covalent, ont permis de démontrer que le lien existant entre la drogue et l'anticorps augmente l'effet antitumoral de l'ensemble (69,203,290).

Cependant, toutes ces études ont mis en évidence un fait extrêmement intéressant qui semble maintenant bien établi: il existe une synergie importante lors de l'administration simultanée de substances antinéoplasiques et d'anticorps pour traiter une tumeur (234,69,128,133,290). Cette synergie est maximale in vivo, lorsque la drogue est injectée une heure avant l'anticorps, mais nulle dans le cas inverse (65-68,70). Cet effet est à rapprocher de l'expérience de FAWWAZ et coll. (105): l'efficacité d'une chimiothérapie dépend de la présence d'anticorps dans le sérum d'un animal porteur de tumeur. La synergie est retrouvée lors d'expériences similaires menées in vitro, en présence ou en l'absence de complément (105,291): le prétraitement de cellules avec des concentrations non toxiques d'antimitotiques potentialise leur lyse par un anticorps en présence de complément (304,307). Certaines drogues ne semblent pas avoir un tel effet (292), bien que cet effet ne puisse pas être rattaché à leur mécanisme d'action propre (305). Il n'y a pas de corrélation entre la potentialisation de la lyse cellulaire et une éventuelle augmentation de la quantité d'antigène exprimé à la surface de la cellule, ou de la quantité fixée de fractions C3 ou C4 du com-

plément (306); les résultats obtenus varient en fonction de la préparation cellulaire, et de la source de complément (305). Enfin, l'effet potentialisateur de la drogue n'est détectable que si le traitement des cellules est effectué à 37°C (et non à 4°C) et si l'anticorps avec le complément sont ajoutés dans les 7 heures qui suivent; la réversion du phénomène est possible à 37°C (et non à 4°C) et s'effectue en 7 heures sans qu'une division cellulaire ait lieu (305). Le mécanisme de cet effet synergique semble donc être l'altération de la réparation de la surface cellulaire provoquée par la drogue. Celle-ci facilite ainsi la lyse ultérieure déclenchée par l'anticorps et le complément (305).

Ces dernières observations, pourraient bien entraîner une relance de l'immunothérapie passive. Celle-ci, appliquée en même temps qu'une chimiothérapie, permettrait d'en diminuer la toxicité générale par réduction des doses de substances antinéoplasiques administrées; elle lui procurerait en même temps une certaine spécificité d'action, d'autant que les autres formes d'immunothérapie ne sont guère concevables à ce stade de la thérapeutique. Cela nous amène tout naturellement à étudier le rôle joué par les relations hôte-tumeur dans l'immunothérapie passive.

4. *Conditions techniques d'utilisation d'un antisérum en relation avec l'hôte et sa tumeur.*

Cette question peut être divisée en trois aspects: rôle de la dose d'antisérum injectée et de son activité déterminée quantitativement in vitro, rôle de la tumeur, sa localisation, sa taille, ses caractéristiques de croissance et ses propriétés de membrane, rôle enfin, de l'hôte, immunité antitumorale acquise, intervention de ses propres cellules non lymphoïdes.

4.1 Antisérum: dose à injecter, activité in vitro.

L'efficacité d'un antisérum dépend de la quantité injectée. L'idée ancienne que de faibles doses seraient facilitantes (234) ne semble pas actuellement retrouvée dans les systèmes de greffe tumorale syngénique, mais au contraire, des doses trop fortes seraient moins actives (278) et peuvent être toxiques pour le rece-

veur (277). Cependant une dose d'antisérum ne peut être définie que par rapport à son contenu réel en anticorps spécifiques, contenu qui peut varier de façon considérable selon les expériences. Ainsi, dans un essai thérapeutique portant sur des plasmocytomes murins qui présentaient des réactivités antigéniques partiellement croisées, on a pu établir une relation quantitative positive entre le pouvoir cytotoxique du sérum in vitro et son effet in vivo sur les différentes lignées tumorales (365). De même, REIF et KIM ont pu observer, en 1969, (277) une bonne corrélation statistique entre l'effet thérapeutique exprimé en pourcentage de survie des souris tests par rapport à celle des souris contrôles, et la quantité d'anticorps injectée.

Toutefois, il reste difficile de parler de dose d'antisérum sans aborder le rôle des caractéristiques de la tumeur, et parmi elles, le nombre de cellules à éradiquer.

4.2 Caractéristiques de la tumeur.

4.21 Son origine anatomopathologique et sa localisation.

Nous avons déjà vu le rôle vraisemblable joué par ces deux données. En effet, une tumeur de type leucémique ou métastatique est beaucoup plus accessible à des anticorps circulants (234) qu'une tumeur solide (326), souvent mal vascularisée ou localisée dans des zones particulières de l'organisme comme le système nerveux central (247). Mais, outre le fait que l'immunothérapie passive, comme les autres formes d'immunothérapie, ne s'adresse la plupart du temps qu'à un nombre limité de cellules malignes (donc à une tumeur solide de taille réduite, dont la vascularisation à ce stade est souvent riche), le petit nombre d'essais thérapeutiques effectués sur des tumeurs solide n'autorise pas à considérer cette hypothèse comme étant une loi d'ores et déjà établie.

4.22 Sa taille.

Pour une quantité d'antisérum donnée, l'immunothérapie passive n'a de chances d'être efficace que sur un nombre restreint de cellules tumorales (234). Ceci a été vérifié, soit par sérothé-

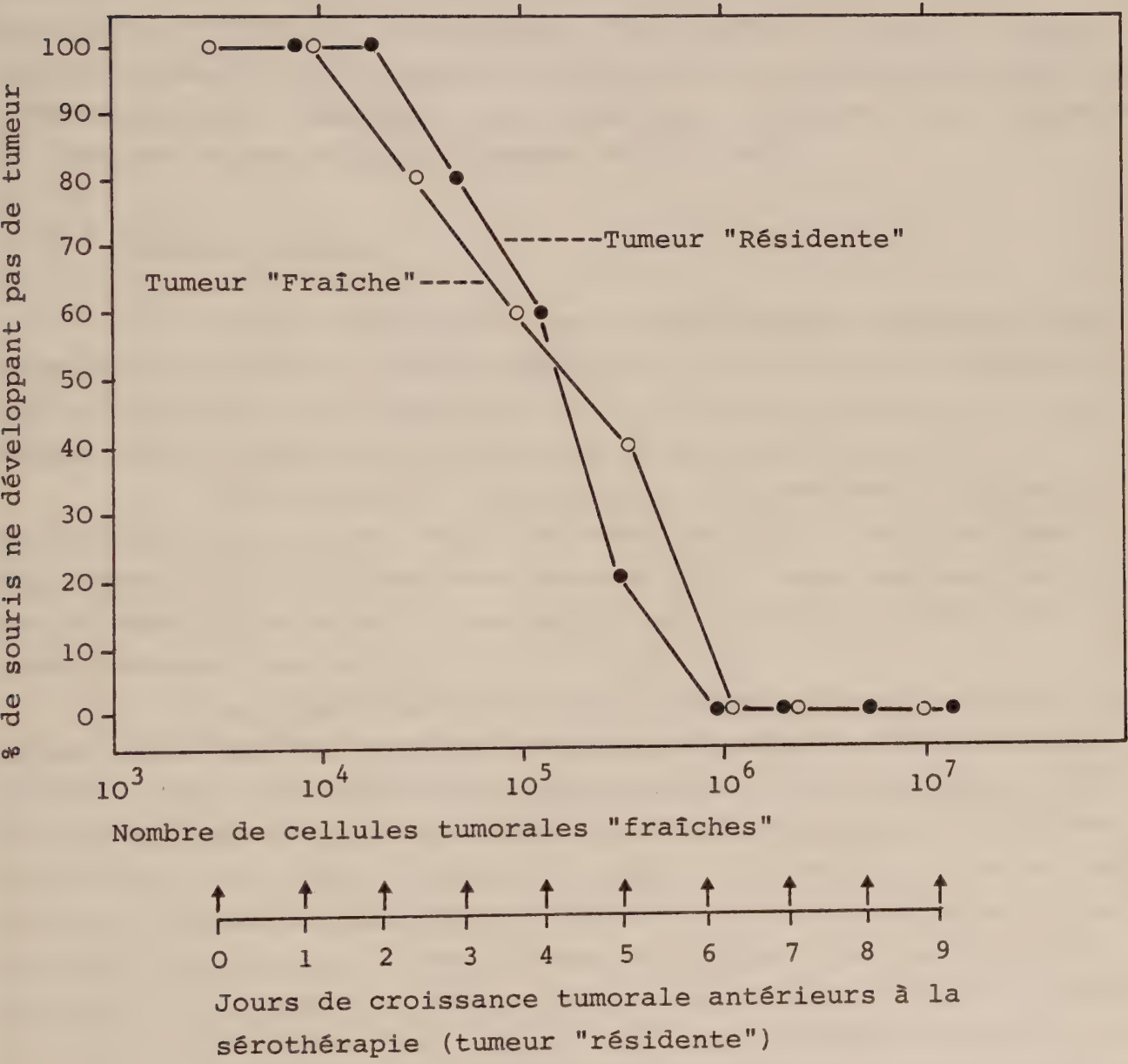
rapie, après un délai fixe, d'une tumeur obtenue à partir d'un nombre croissant de cellules (247,252), soit par traitement, à différents intervalles de temps, d'une tumeur induite par un même nombre de cellules (127,140,159,247).

Un travail remarquable vient d'apporter une démonstration claire et précise à ce sujet. SHIN et coll. (318) ont établi la cinétique de croissance en territoire sous-cutané du lymphome 6C3HED syngénique de la souris C3H. Après avoir vérifié que cette cinétique était identique quel que soit le nombre de cellules 6C3HED injectées au départ, ils ont comparé l'effet thérapeutique (exprimé en pourcentage de prise tumorale) d'une injection unique de 0,5 ml d'un même antisérum sur un nombre identique de cellules 6C3HED fraîchement injectées, ou résultant de la multiplication de ces cellules in vivo (à temps variable après l'injection d'une faible quantité de cellules): le test sur les cellules "résidentes" in vivo a été fait sur différents groupes de souris injectées le premier jour avec $3 \cdot 10^3$ cellules 6C3HED et traitées par l'antisérum 0,1,2,3,4,5,6,7,8, ou 9 jours après l'inoculum; l'essai sur les cellules fraîches a été réalisé par sérothérapie immédiate de différents groupes de souris recevant un inoculum allant de $3 \cdot 10^3$ à 10^7 cellules. L'effet thérapeutique observé est le même pour un nombre de cellules leucémiques résidentes (déterminé par le calcul à partir des données cinétiques du cycle cellulaire et du temps de doublement), que pour un nombre identique de cellules injectées fraîchement. La sérothérapie ne modifie donc pas de façon détectable la cinétique tumorale (pas d'effet cytostatique, ni allongement du temps de doublement), et elle a un effet cytotoxique direct qui s'amenuise au fur et à mesure que le nombre de cellules malignes présentes croît, et ce pour une capacité en anticorps identique (cf figure n° 1). Cette étude est d'ailleurs complétée par un autre travail de la même équipe (313): en dessous d'un certain nombre de cellules malignes à éradiquer, ici 10^5 , l'effet thérapeutique est proportionnel à la quantité d'anticorps injectée. Cela tendrait donc à prouver que l'immunothérapie passive est la première thérapeutique antinéoplasique à pouvoir éradiquer à très faible dose un très petit nombre de cellules malignes.

FIGURE N° 1

Effet d'une sérothérapie de 0,5 ml d'un même antisérum sur la formation de tumeur, appliquée après inoculation de cellules "fraîches" ou après multiplication des cellules in vivo (tumeur "résidente"). L'échelle du temps est ajustée au nombre de cellules tumorales présentes, nombre déterminé par le calcul.

d'après SHIN et coll. (318,313)



4.23 Ses caractéristiques propres (métabolisme membranaire).

La cible de l'anticorps étant située sur la membrane cellulaire, le métabolisme de cette dernière peut influencer la réaction antigène-anticorps: une tumeur à croissance rapide (365), ou d'une agressivité accrue (231), est moins sensible à une sérothérapie, car l'expression de l'antigène tumoral est plus faible. Par ailleurs, la membrane cellulaire, en présence de l'anticorps, peut moduler dans certains cas, l'expression de l'antigène en la faisant disparaître (247,355); le turn-over des protéines de surface entraîne la libération d'antigènes solubles susceptibles de bloquer les sites anticorps dans le torrent circulatoire (355). Enfin, la cellule maligne pourrait même par ses enzymes lysosomiaux détruire partiellement les immunoglobulines fixées sur leur membrane, inactivant leur capacité de lyse par destruction du fragment Fc (64,184).

4.3 Rôle de l'hôte.

Dans l'efficacité d'une immunothérapie passive, l'hôte intervient au moins à deux niveaux par l'existence de son immunité antitumorale, et par l'intervention d'effecteurs cellulaires du receveur dans le mécanisme d'action de cette sérothérapie.

D'un point de vue théorique, la présence d'anticorps de l'hôte, fixés sur ses cellules tumorales (271), ou circulants, peut gêner l'action d'une sérothérapie (355); mais une immunisation active spécifique faite au préalable, peut rendre plus efficace une immunothérapie passive ultérieure (341).

Le mécanisme d'action de l'immunothérapie passive n'est probablement pas une cytolyse directe par activation du complément endogène, celui-ci est d'ailleurs souvent de faible activité (234). Plusieurs arguments militent pour un effecteur cellulaire intermédiaire, qui lui, serait lytique. En effet, une série de travaux mentionnent un parallélisme entre l'activité in vivo d'un sérum et sa capacité d'opsonisation dans le test de cytotoxicité cellulaire à médiation anticorps (101,159,326,49). L'irradiation totale de l'hôte à 400 ou 500 R inhibe l'efficacité de l'immunothérapie passive (316, 225,252), et celle-ci est recouvrée après addition de certaines cellules ayant à leur surface des récepteurs pour le fragment Fc des

immunoglobulines: macrophages (317,366), certains lymphocytes et même des plaquettes (314,315); les polynucléaires par contre n'ont pas cette capacité de restauration (315). Cependant cet effet de l'irradiation donne lieu à d'autres interprétations, tant au niveau de la cellule effectrice (317) qu'au niveau de l'animal entier (260,369). De même, des lymphocytes T n'interviennent pas pour les uns (250), mais font partie du mécanisme pour d'autres (114). Par ailleurs, la stimulation des cellules du système réticulo-endothélial par le thio-glycate augmente l'efficacité d'un antisérum in vivo (369); et surtout, lorsque le nombre de cellules tumorales est trop important, augmenter la quantité d'anticorps injectés ne suffit plus pour en conserver l'efficacité, qui, par contre, est restaurée si en plus sont injectés des macrophages péritonéaux en nombre équivalent à celui des cellules malignes présentes (102,313): tout se passe comme si le facteur limitant d'une immunothérapie était la quantité de macrophages disponibles autour de la tumeur. Tous ces arguments expérimentaux confirment l'importance des cellules effectrices du système de défense non spécifique dans le mécanisme d'action de l'immunothérapie passive antitumorale, comme d'ailleurs, dans toutes les autres formes de sérothérapie.

L'immunothérapie passive apparaît donc comme une thérapeutique non négligeable, en particulier dans son association possible avec la chimiothérapie, et dans son efficacité à très faible dose sur un petit nombre de cellules malignes.

Face à ces résultats essentiellement expérimentaux, que nous venons d'explorer, nous allons faire un rapide tour d'horizon sur les essais d'immunothérapie effectués chez l'homme ces dernières années.

QUATRIEME PARTIE

=====

ESSAIS RECENTS D'IMMUNOTHERAPIE CHEZ L'HOMME

=====

L'immunothérapie active est à l'heure actuelle la plus utilisée en clinique humaine. Il y eut d'abord les premiers essais randomisés de MATHE et coll. (213): ils ont observé une amélioration de la survie de sujets porteurs de leucémie aiguë lymphoblastique après leur traitement avec des leucoblastes allogéniques irradiés et du BCG. Suivirent d'autres tentatives thérapeutiques: pour la plupart elles ont été réalisées sur le même modèle, chez des patients porteurs de leucémie aiguë lymphoblastique (6,219,322), myéloblastique (185,269,111), ou de tumeur solide comme le mélanome malin (126,240), le cancer thyroïdien (7), le cancer de l'ovaire (165), ou du poumon (248). Les cellules malignes utilisées pour l'immunothérapie sont des cellules allogéniques de même classification anatomopathologique le plus souvent irradiées, puisque l'utilisation de cellules vivantes a pu conduire à des allogreffes tumorales (296,235, observations multiples non publiées). D'autres équipes immunisent les patients avec des cellules cultivées in vitro, dérivées de leucémie ou de lymphome (328,294,327). Quelques techniques de modification des cellules tumorales ont été également préconisées, comme le traitement par la neuraminidase (23,239,285,286,308), l'oncolysat viral (143) ou même l'extraction d'antigènes tumoraux (331).

L'immunothérapie adoptive fait l'objet de deux types d'essai: les transferts cellulaires et acellulaires; Parmi les transferts cellulaires, la greffe de moëlle osseuse allogénique a été préconisée comme traitement des leucémies ou de cancers à un stade avancé, mais n'a pas eu le succès escompté, les échecs étant partagés entre la rechute ou la réaction du greffon contre l'hôte (218, 110,362,363,11). NEFF et coll. ont injecté des leucocytes immuns provenant de donneurs immunisés activement par des cellules de l'ostéosarcome du receveur sans effet thérapeutique notable (236). En dehors du Facteur de Transfert dont nous avons noté plus haut les études, seules ont été faites quelques expériences préliminaires in vitro de transfert acellulaire: il a été montré que des lymphocy-

tes autologues peuvent être rendus immuns (leur activité spécifique est démontrée par des tests de cytotoxicité in vitro) soit par une sensibilisation in vitro contre les cellules tumorales autologues (211), soit par leur incubation avec du "RNA immun" provenant d'animaux immunisés par les cellules tumorales autologues, ou de patients en rémission (189,190).

L'immunothérapie passive reste le parent pauvre, trois observations privilégiées ont seulement été rapportées ces dernières années, après l'essai de NGU sur deux cas de lymphome de Burkitt traités par des sérums de patients en rémission (241). La première rend compte d'une rémission de longue durée obtenue chez un nourrisson trisomique 21, porteur d'une leucémie congénitale, après injection du sérum maternel qui contenait des anticorps cytotoxiques pour les cellules leucémiques de son enfant (74). La seconde observation porte sur une diminution du nombre de nodules de perméation cutanés d'un mélanome malin, après injection d'immunoglobulines de lapin, anti-cellule mélanique, couplées au chlorambucil (132). Enfin, notre équipe a pu suivre deux patientes atteintes de leucémie aiguë, myéloblastique chez l'une et lymphoblastique chez l'autre, en phase terminale: l'une d'elles, après injection de sérum provenant d'un donneur de sang et contenant des anticorps cytotoxiques pour ses lymphoblastes eut une légère mais nette diminution du nombre de ses cellules leucémiques (BERTOGLIO, Thèse de Médecine Lyon 1977).

Cependant, malgré quelques essais effectués avec des contrôles adéquats pour affirmer l'efficacité de l'immunothérapie (219,322) ou son échec (240), nous sommes bien obligés de reconnaître que les nombreux autres travaux cliniques réalisés jusqu'à ce jour n'ont apporté qu'une information limitée sur les antigènes tumoraux humains et sur leur relation avec les défenses immunitaires (32,53,54,100,212): il y a beaucoup d'observations particulières sur quelques cas de réponse positive à une immunothérapie. Pour fascinantes qu'elles soient, elles sont loin d'être concluantes (11). En outre, la plupart des essais reposent sur l'existence d'antigénicité croisée entre des cellules tumorales allogéniques de même origine tissulaire, ce qui n'est malheureusement encore qu'hypothétique.

CINQUIEME PARTIE

=====

MECANISMES IMMUNOLOGIQUES MIS EN JEU LORS DE

=====

L ' IMMUNOTHERAPIE

=====

L'étude des mécanismes immunologiques mis en jeu lors de l'immunothérapie ne peut pas être dissociée fondamentalement de celle du rôle de l'immunité antitumorale dans l'apparition et le devenir d'un cancer. En effet, dans l'un et l'autre cas, on éprouve les plus grandes difficultés à démontrer, tant *in vivo* qu'*in vitro*, l'existence d'une réponse immune antitumorale et à caractériser des antigènes spécifiquement associés à la cellule maligne, et plus particulièrement chez l'homme. De plus il est probable que les mécanismes mis en jeu sont les mêmes, et l'appréhension de l'immunité antitumorale du porteur de tumeur permet d'orienter une immunothérapie. A ce jour, de nombreux mécanismes sont évoqués et parfois démontrés, l'ensemble des travaux révélant une complexité de plus en plus grande de la mécanique immunologique antitumorale.

Classiquement sont distingués l'immunité cellulaire et l'immunité humorale. Pour plus de clarté nous conserverons cette division dans notre exposé, bien que de très nombreuses interconnexions les relient.

1. Mécanismes cellulaires.

Leur étude repose sur les expériences de transfert adoptif cellulaire effectué à partir de lymphocytes provenant soit d'animaux sains immunisés activement, soit de porteurs de tumeur traités par une immunothérapie active.

In vivo, le transfert adoptif systémique de l'immunité est possible et efficace (265), mais les études portant sur des transferts locaux dérivés du test de Winn (test de "neutralisation" où les cellules tumorales sont mélangées aux cellules immunes et injectées *in vivo*) sont plus aisées. L'analyse de ces études *in vivo* est gênée par la complexité des relations hôte-tumeur et de la réponse immune: en effet, lors d'un transfert adoptif, deux types de cellules sont transférées, des cellules porteuses de l'information immune, et des cellules effectrices proprement dites, capables

de détruire directement la cellule tumorale. Or, les études in vivo, faites jusqu'à présent dans ce domaine, n'établissent pas clairement le rôle respectif du lymphocyte porteur de l'information immune et de la cellule effectrice: dans le test de Winn, un échec de l'efficacité du transfert peut être rattaché soit à l'absence de transfert de l'information immune, soit à l'absence de transfert des cellules effectrices, ou à l'absence des deux.

- Les cellules responsables du transfert de l'information immune sont des lymphocytes (55,197,323). Cette information immune antitumorale est spécifique (41,284). Les lymphocytes peuvent provenir de la rate, du thymus, du canal thoracique ou d'exsudats péritonéaux (289). Le lymphocyte responsable du transfert, étant détruit par un sérum anti-T et du complément est donc de type T (30,137,191,220), bien que l'intervention de lymphocytes non T soit possible (27). On peut l'obtenir après une immunisation in vitro (138). L'irradiation de ce lymphocyte T à des doses de 200 R (289) ou même de 2000 R (109,164,343) ne l'empêche pas de transférer l'immunité spécifique. Ce lymphocyte intervient par recrutement de lymphocytes non T de l'hôte (164,335) et parfois de lymphocytes T, si le lymphocyte T est transféré après une brève sensibilisation in vitro (24 heures) (343). Ce recrutement se fait probablement par l'intermédiaire d'un facteur soluble tel que le "RNA immun" (175).

- Des cellules effectrices capables de lyser des cellules tumorales sont également transférées, leur présence est attestée à la fois par des arguments tirés des expériences précédentes et par l'observation d'un parallélisme entre les résultats d'un test de cytotoxicité à médiation cellulaire in vitro, et ceux d'un test de Winn (72). Une partie de ces effecteurs a une activité lytique locale non spécifique de la tumeur (309). Cependant, la part de destruction tumorale qui incombe aux cellules effectrices du donneur est vraisemblablement faible (surtout lors de transfert systémique), cette destruction étant surtout le fait d'effecteurs provenant du receveur.

En effet, l'expression in vivo de l'efficacité antitumorale d'un transfert de lymphocytes T nécessite la présence de macrophages: l'irradiation préalable du receveur, ou son traitement par la silice, rend le transfert inactif (368); l'exclusion des cellules adhérentes de la suspension cellulaire transférée entraîne

également l'échec du transfert, si le rapport nombre de lymphocytes sur nombre de cellules malignes est faible, ou si le receveur a été préalablement irradié, cette inhibition étant levée dans les deux cas par l'addition de macrophages normaux. L'importance du rôle antitumoral joué par le macrophage est d'ailleurs retrouvée dans d'autres travaux (113,210,357), où la présence de cette seule cellule inhibe déjà fortement le potentiel de croissance de cellules malignes; in vitro, une activité cytotoxique de type non spécifique est retrouvée, sur des cellules malignes, en présence de macrophages provenant d'animaux porteurs de tumeur ou immuns (43,160).

Par contre, d'autres lymphocytes T ont une activité suppressive, entraînant une facilitation tumorale chez le receveur (123). Ils sont présents dans la rate, le thymus, les ganglions, la moëlle osseuse, et absents du sang périphérique d'animaux porteurs de tumeur croissante (123,124,348). Leur spécificité d'action n'est pas clairement établie (125); l'immunisation in vitro de lymphocytes peut faire apparaître de telles cellules (52,324,325). Ils font également intervenir une cellule radiosensible du receveur (342,345). Une balance numérique entre ces lymphocytes T suppresseurs et les cellules T effectrices du transfert semble exister (192).

Des lymphocytes provenant d'animaux immuns (après une immunothérapie active ou adoptive) sont responsables de l'apparition d'une réaction in vitro dans certains test d'immunité cellulaire (72). Mais chacun des tests utilisables ne peut pas toujours être relié à l'effet observé in vivo. Dans le test de cytotoxicité au Chrome 51 de Carrotini et Brunner, certains auteurs ont mis en évidence un bon parallélisme entre l'activité lytique in vitro des lymphocytes et leur effet antitumoral in vivo (28,29,273). Mais ce parallélisme n'est pas retrouvé par GLASER et coll. (135), la spécificité du test est même mise en cause (164). Le microtest de Takasugi et Klein, dans d'autres systèmes expérimentaux, reflèterait mieux l'activité antitumorale in vivo, mais seulement d'un point de vue qualitatif (164,339). De même, la blastogénèse du lymphocyte en présence de la cellule tumorale (Mixed Lymphocyte Tumor cell Culture) est en corrélation (135,339) ou non avec les résultats obtenus in vivo. D'ailleurs, ces toutes dernières années, les tests d'immunité cellulaire de cytotoxicité ont été remis en cause, et en particulier leur spécificité n'est pas clairement établie (13,155,202,258); leur

signification in vivo n'en est que plus douteuse. Ainsi, chez l'homme, dans toute étude in vitro non autologue, on ne peut pas actuellement affirmer la spécificité des réactions, malgré certains arguments expérimentaux (312). Cependant, des études comparatives de cytotoxicité à médiation cellulaire sur des cellules tumorales autologues et sur les fibroblastes autologues correspondants, ont mis en évidence leur caractère spécifique (211); de cette manière, KERN et coll. ont pu démontrer le caractère spécifique d'un transfert réussi de l'immunité antitumorale par du "RNA immun" allo- ou xénogénique (189,190).

L'étude comparative des effecteurs de l'immunité in vitro et in vivo est donc loin d'être explicite, et un exposé des mécanismes effecteurs de l'immunité antitumorale ne peut être fait qu'à titre provisoire (202).

2. Mécanismes humoraux.

Ces mécanismes peuvent être facilement étudié lors d'expériences d'immunothérapie passive. Mais il semble bien que dans un certain nombre de cas, un des effecteurs d'une immunothérapie active ou adoptive soit un élément de type anticorps: la présence, le taux ou la qualité d'anticorps spécifique dans le sérum d'organisme immunisé activement ont pu être liés à sa capacité de rejeter sa tumeur (193,51,249). De même chez l'homme, lors d'allo-immunisation par des cellules leucémiques, l'apparition d'anticorps anti-HL-A ou anti-blastiques correspond à une meilleure survie à long terme (185), bien que des anticorps spécifiques de tumeur n'aient pas été retrouvés dans un autre essai thérapeutique (328), ou que leur présence n'ait guère de signification (269). Certains sérums provenant d'animaux ayant subi une immunothérapie active, sont capables d'entraîner un rejet de la même tumeur, s'ils sont transférés passivement (266); mais la démonstration d'anticorps spécifiques in vitro, peut fort bien s'accompagner d'une inefficacité in vivo lors d'un essai de transfert passif (15,129).

Lors d'essais d'immunothérapie passive, nous avons déjà vu que les anticorps peuvent agir soit par l'intermédiaire du complément (182), soit par l'intermédiaire d'une cellule radiosensible (316) de type macrophage. De même, le rôle du macrophage apparaît

prédominant dans l'induction du rejet par sérothérapie d'un nombre important de cellules malignes: une quantité trop importante de cellules ne peut pas être rejetée même après l'injection d'une forte dose d'anticorps, si l'on injecte pas en outre des macrophages au niveau de l'inoculum tumoral (102,313).

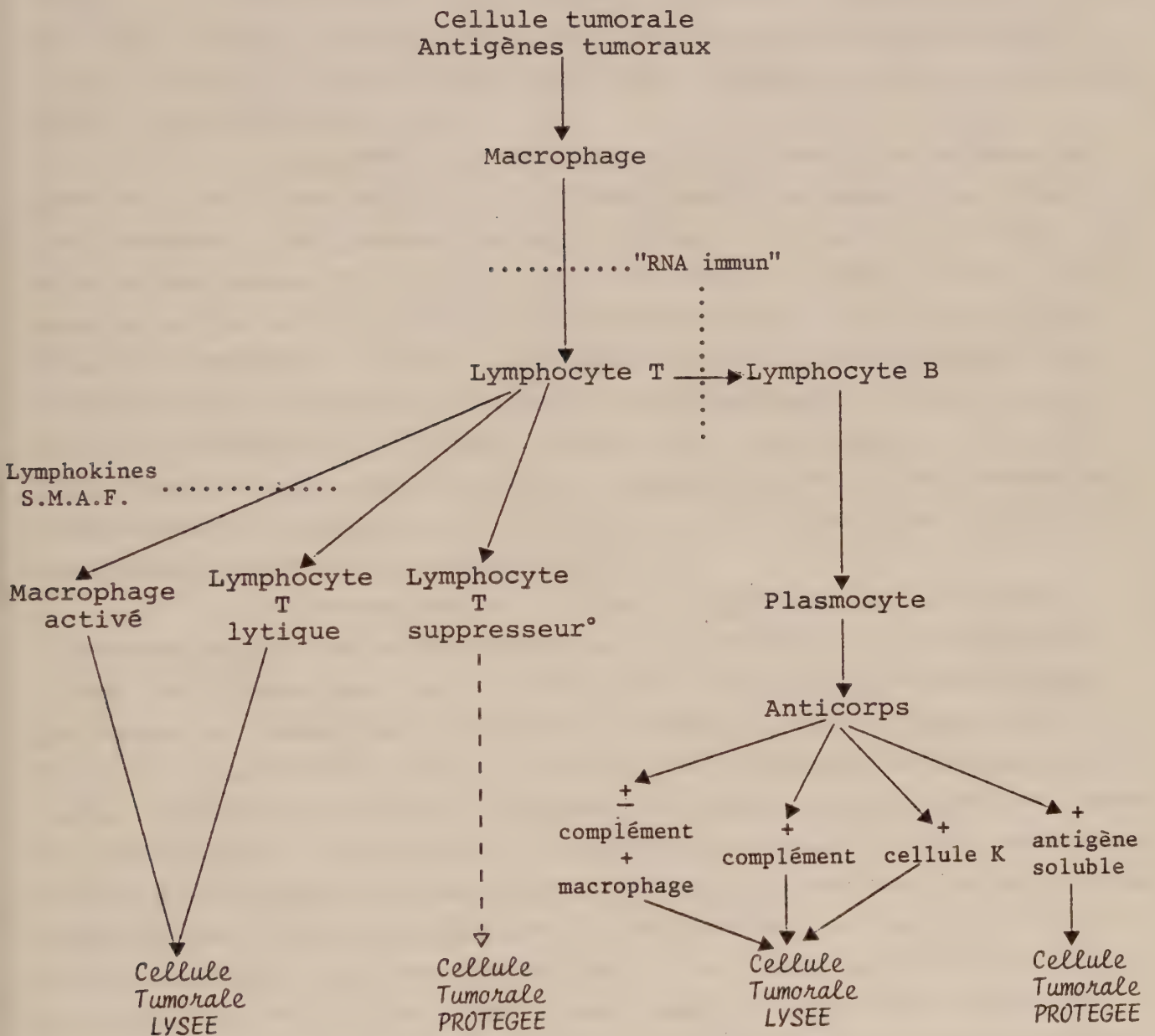
In vitro, certains des anticorps efficaces en immunothérapie peuvent être lytiques en présence de complément (143,247). D'autres agissent en permettant à une cellule "spécialisée" appelée K, qui possède à sa surface un récepteur pour le fragment Fc activé de certaines immunoglobulines, de lyser la cellule maligne (159). D'autres enfin, probablement les plus importants in vivo, réalisent une opsonisation de la cellule tumorale, qui peut être amplifiée par la fixation de complément, tout à fait comparable à ce qui se passe lors d'une infection microbienne: ils permettent ainsi au macrophage de venir détruire cette cellule maligne (152,179,326).

Cette complexité de la "mécanique" immunologique mise en jeu lors d'une immunothérapie doit être par ailleurs rapprochée des connaissances acquises en immunologie fondamentale et en immunologie de transplantation. En particulier, l'existence de sous-classes de lymphocytes ayant une fonction spécialisée tant au niveau de la reconnaissance de l'antigène que de la mise en place de la réaction immune et de son contrôle est probable en immunologie de tumeur, ce qui devra faire l'objet d'études à venir. Cependant, il faut garder en mémoire que l'immunologie de tumeur a probablement ses caractéristiques propres, qui la distinguent d'un simple rejet de greffe: les premières descriptions histologiques avaient déjà montré que le ganglion de drainage d'une immunisation avec un antigène bactérien avait une hyperplasie des follicules primaires (développement de la réponse en anticorps), celui d'une greffe de peau allogénique une hyperplasie de l'aire paracorticale (développement de la réponse en immunité cellulaire) et celui d'une greffe de tumeur syngénique une hyperplasie de ces deux territoires.

Nous venons de voir les nombreux mécanismes effecteurs de l'immunité antitumorale que nous avons tenté de résumer dans le schéma n° 3. Nous insistons sur le fait que, s'il existe plusieurs effecteurs plus ou moins élaborés, il semble bien que le plus simple, c'est-à-dire le macrophage stimulé par les lymphokines et dont

SCHEMA N° 3

Principaux mécanismes effecteurs de l'immunothérapie
(l'immunisation et son contrôle ne sont qu'ébauchés)



°Son action n'est en fait qu'indirecte, par interaction avec les précurseurs des effecteurs, au stade de l'immunisation et de son contrôle.

N.B.: Tous ces effecteurs subissent des interactions réciproques qui n'ont pas été indiquées dans ce schéma par souci de clarté.

l'action peut être rendue spécifique par l'intermédiaire d'un anticorps, soit le plus important et le plus efficace sur le plan quantitatif (62,198,234). D'ailleurs le macrophage, seul, est capable de reconnaître in vitro une cellule maligne d'une normale (185). Sa spécificité et son efficacité dépendent de la présence d'une opsonine-anticorps, du complément, de son origine (alvéolaire, péritonéale...) et de son état d'activation (279,349). BOYLE et coll. ont pu ainsi séparer in vitro deux populations de macrophages immuns, l'une à activité cytotoxique spécifique, l'autre à activité cytostatique non spécifique (44).

L'intervention relative des différents mécanismes dépend du type d'immunothérapie (l'immunothérapie passive ne faisant pas intervenir de lymphocytes spécifiques de la cellule maligne) et très probablement de l'origine de la tumeur. En effet, il est vraisemblable que pour des raisons d'accessibilité, les tumeurs liquidiennes (leucémie, ascite, pleurésie) soient plus sensibles à une sérothérapie qu'une tumeur solide, les métastases occupant une position intermédiaire. De même, de par leur localisation très privilégiée sur le plan immunologique, certaines tumeurs (du système nerveux central en particulier) doivent a priori être plus difficilement accessibles à une immunothérapie.

Une troisième et dernière composante est à relever, l'expression des antigènes tumoraux à la surface de la cellule maligne. La libération, dans l'organisme, d'antigènes solubles peut perturber la mécanique immunitaire, comme on a pu le démontrer in vitro, en particulier par la formation de complexes antigènes/anticorps inhibiteurs (surtout lorsque l'antigène est en excès) de tests de cytotoxicité à médiation cellulaire (16,371). De plus, une diminution de la quantité d'antigène exprimée à la surface de la cellule tumorale peut rendre inefficace les mécanismes de lyse cellulaire, qui nécessitent une quantité minimale d'antigène exprimé (199,356); ce phénomène peut aller jusqu'à une immunosélection des cellules malignes qui n'expriment que peu ou pas d'antigène, ou des antigènes différents. Lors d'expériences d'immunothérapie, une difficulté supplémentaire apparaît donc: la cellule tumorale ne reste pas passive devant l'agression immune, et il semble bien que plusieurs moyens lui permettent de l'esquiver (cf schéma n° 4).

SCHEMA N° 4

Mécanismes par lesquels une tumeur peut échapper
à la "surveillance" immunitaire.

ANERGIE DE L'HOTE

Tolérance spécifique

Incapacité de réponse

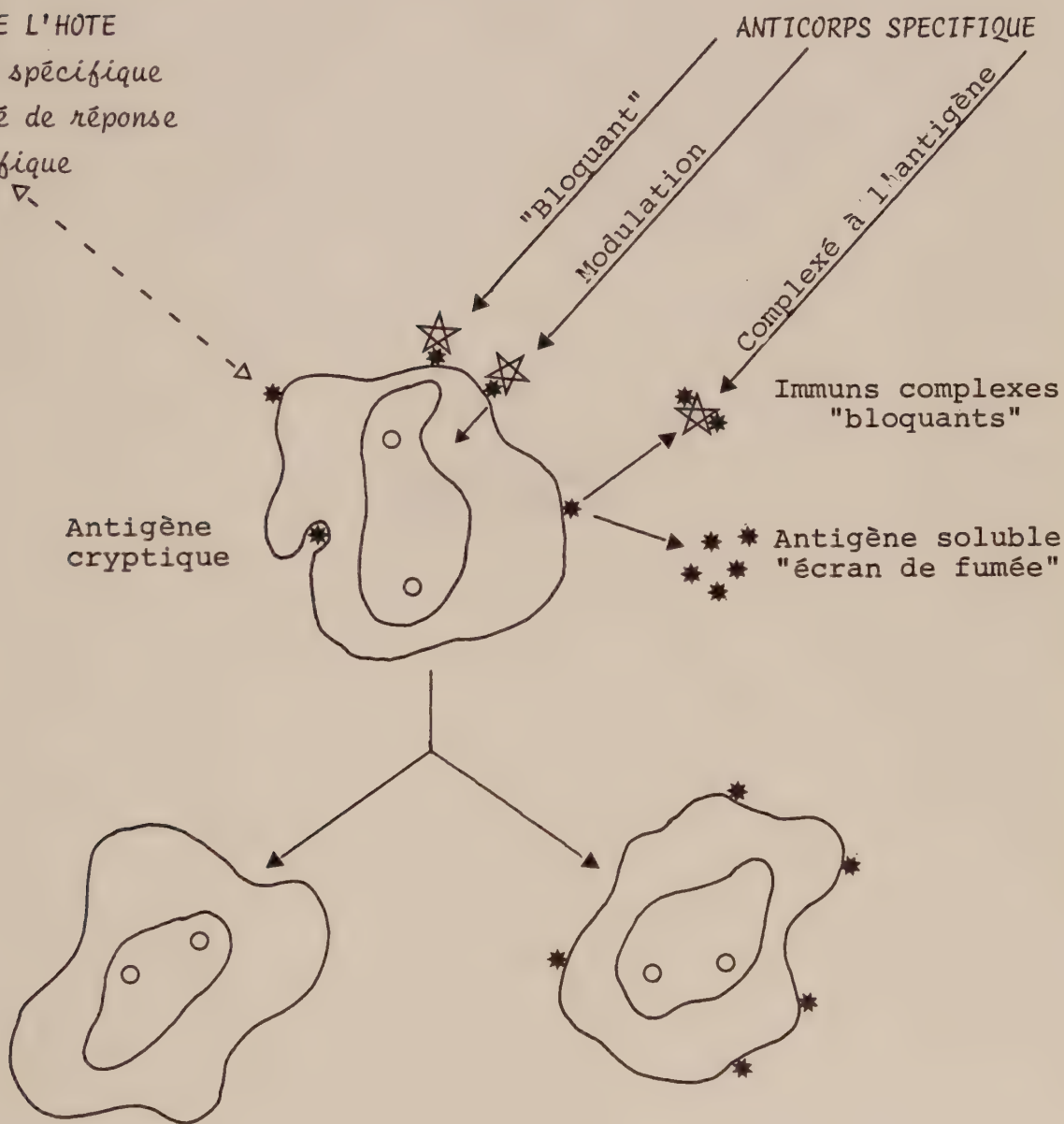
non spécifique

ANTICORPS SPECIFIQUE

"Bloquant"

Modulation

Complexé à l'antigène

Immuns complexes
"bloquants"Antigène
cryptiqueAntigène soluble
"écran de fumée"Immunosélection
(délétion antigénique)Esquive
("Sneaking through")

PERSPECTIVES...
=====

Actuellement, l'absence de toute thérapeutique efficace de façon élective sur un petit nombre de cellules tumorales qui échappent aux traitements classiques fait cruellement défaut au cancérologue. Il apparaît clairement que l'immunothérapie, et elle seule, a une chance non négligeable d'être cette thérapeutique convoitée. Cependant, de nombreux travaux restent à faire, et de nouvelles orientations de recherche doivent être envisagées.

En premier lieu, les tumeurs spontanées de l'animal sont le plus souvent peu antigéniques (202), et il en va de même pour l'homme. En conséquence, les modèles d'immunothérapie expérimentale utilisés jusqu'ici et basés sur l'étude des tumeurs transplantées, s'ils ont apporté un certain nombre de résultats encourageants, doivent être en partie délaissés au profit de modèles de tumeurs spontanées des animaux domestiques dont certaines ont une fréquence élevée et sont donc facilement exploitables (9,10). L'étude de tels modèles exige une bonne coopération avec les vétérinaires et les propriétaires des animaux; mais leur grande similitude avec les tumeurs humaines devrait permettre l'acquisition de données nouvelles, directement exploitables en thérapeutique humaine (14,18,214).

La définition d'antigènes tumoraux d'origine animale ou humaine doit donc se poursuivre. Des différentes classes d'antigènes exprimés à la surface de la cellule maligne (néoantigènes ou antigènes de transplantation modifiés, réexpression d'antigènes embryonnaires, expression anormale d'antigènes de différenciation) l'immunogénicité chez l'hôte sera établie. Cependant, l'antigène le plus intéressant à exploiter en thérapeutique humaine ne sera pas obligatoirement le plus immunogène; on peut en effet penser que dans un avenir proche on pourra disposer de source commerciale d'antigènes tumoraux, dont l'utilisation sera d'autant plus facile à grande échelle que leur spécificité sera moins étroite: l'existence d'antigènes tumoraux communs à de nombreuses tumeurs individuelles - dont

le type anatomopathologique pourra être le même - permettra d'envisager la création d'une véritable banque d'antigènes plus aisée à manipuler que s'ils ont une spécificité étroite strictement individuelle.

Les techniques d'obtention d'un matériel antigénique satisfaisant pour une immunothérapie devront être développées. En l'absence de connaissances précises sur la spécificité des antigènes tumoraux humains et en particulier sur l'existence de réactions croisées, la priorité sera donnée dans un premier temps aux méthodes utilisables en système autologue: traitement des cellules par la neuraminidase, (l'absence d'oncogénicité pourrait être vérifiée préalablement par transplantation chez des souris "nude"), oncolysat viral, xénogénisation des cellules, utilisation d'hybrides cellulaires. Le transfert adoptif à des lymphocytes autologues, in vitro, par incubation avec du "RNA immun" provenant d'un animal immunisé contre la tumeur du sujet, est une technique pleine d'avenir. De même, les essais d'immunisation ou de resensibilisation in vitro de lymphocytes autologues sur les propres cellules tumorales de l'hôte sont à poursuivre.

Des recherches reposant sur de nouvelles hypothèses sont à envisager. Le maintien in vitro de cellules tumorales humaines se heurte à plusieurs obstacles: la réalisation n'en est pas aisée, la réussite en est aléatoire, et la culture obtenue est souvent dans ses caractéristiques fort éloignée de la tumeur originelle. Un court passage in vivo chez des souris "nude" (dépourvues de thymus et acceptant facilement une hétérogreffe) apparaît simple et rentable, mais les cellules malignes obtenues risquent fort d'être contaminées par des virus de type C d'origine murine. N'aurait-on pas là une possibilité de xénogénisation simple et très efficace, que l'on pourrait même accentuer par une surinfection avec un virus connu comme le virus de Gross ?

Un autre obstacle à l'immunisation active est, nous l'avons vu, la nécessité de présenter l'antigène tumoral sous une forme immunogène, mais non tumorigène. Or il est maintenant bien établi que la présentation d'un antigène fixé sur une surface cellulaire est beaucoup plus immunogène que tout autre technique. Le développement récent des membranes artificielles tel que les liposomes,

reconstituant une membrane cellulaire, permet d'entrevoir l'inclusion d'antigènes tumoraux à l'intérieur de ces fantômes et leur utilisation en immunothérapie active (146). Les premiers résultats expérimentaux sont d'ailleurs fortement encourageants en ce qui concerne la qualité de la réponse immune obtenue avec des antigènes non tumoraux. De plus, la composition finale du liposome permet de prévoir en partie son devenir in vivo, ce qui laisse entrevoir une autre utilisation du liposome, comme transporteur semi-spécifique de drogues antinéoplasiques sans effet toxique observable durant le transfert, la destination pouvant même être plus élective par inclusion supplémentaire d'anticorps spécifiques dans le liposome (145).

Les essais en clinique humaine seront grandement facilités par la détermination des conditions d'administration d'une immunothérapie, si l'on se réfère au développement fructueux de la chimiothérapie qui se fit jour, suite non à la création de produits nouveaux, mais à l'exploitation optimale de substances bien connues. Parmi les critères de choix des conditions d'administration, outre les problèmes de dose, lieu et durée, il devra être tenu compte des mécanismes régissant l'efficacité d'une immunothérapie antitumorale (62). Le rôle grandissant des effecteurs non spécifiques comme le macrophage devra orienter les essais thérapeutiques chez des individus dont ces cellules seront potentiellement intactes, ou réactivées de façon non spécifique (utilisation d'adjuvants tel que le BCG). Cela suppose une étude complète des dérèglements du système réticulo-endothélial et immunitaire, entraînés par les traitements cytoréducteurs (chirurgie, chimiothérapie, radiothérapie), nécessaires avant toute immunothérapie, puisse qu'elle ne peut se concevoir que sur un nombre de cellules malignes très limité (de l'ordre de 10^8 à 10^5 voire moins). La restauration préalable des effecteurs non spécifiques et spécifiques pourrait se faire, lorsque la dépression entraînée par les premières thérapeutiques a été profonde, par une autogreffe de cellules lymphoïdes et macrophagiques prélevées antérieurement et conservées vivantes en azote liquide. Le temps de restauration spontanée ou provoquée conditionnera, bien entendu, l'intervalle de temps nécessaire entre la thérapeutique cytoréductrice et l'immunothérapie.

Une exception importante à cet échelonnement des thérapeutiques est l'utilisation d'une immunothérapie passive simultanée-

ment avec une chimiothérapie; de nombreux arguments expérimentaux militent en faveur d'une potentialisation remarquable dans certaines conditions, entre ces deux thérapeutiques (cf. 3ème partie). Un dernier facteur peut intervenir sur l'efficacité de tel ou tel mode d'immunothérapie: c'est la nature liquidienne ou non de la tumeur et sa localisation; on se rappellera ici que l'accessibilité à une sérothérapie est de moins en moins bonne si la tumeur est leucémique, métastatique, solide, logée dans le système nerveux central.

Enfin, l'établissement de résultats exploitables à partir d'essais cliniques, s'il passe dans un premier temps par des essais de type I c'est-à-dire sans témoins, ne peut être réalisé que par une approche statistique de ces essais avec randomisation. De même, ces essais doivent porter sur les systèmes hôte-tumeur qui ont des chances de donner des résultats, en particulier sur des cancéreux à un stade clinique encore peu avancé: l'immunothérapie ne peut en aucun cas être le remède miracle et mystérieux de la dernière chance.

Plutôt que de traiter un cancer, ne pourrait-on pas envisager une prévention immunologique ?

D'emblée, une immunoprévention spécifique dirigée contre le Cancer est à exclure: les antigènes tumoraux et les agents étiologiques sont en effet multiples. De plus, il nous apparaît difficile d'imaginer une vaccination massive pour empêcher la survenue d'un cancer dans une faible fraction de la population.

Cependant, certaines tumeurs pourraient se prêter à une immunoprévention à la condition que des populations restreintes ayant une assez forte probabilité d'être atteintes par une tumeur donnée (population à haut risque) puissent être détectées. En particulier, la découverte d'autres agents étiologiques viraux tel que le virus d'Epstein-Barr, pourrait conduire à des essais de vaccination réalistes (98), s'appuyant sur des bases expérimentales d'ores et déjà établies (prévention de la leucémie spontanée chez la souris AKR) (166,167).

L'immunothérapie en 1977 est une réalité, promise à un grand avenir. Mais une coopération rigoureuse entre les chirurgiens, radiothérapeutes, chimiothérapeutes d'une part, et les chercheurs, biologistes, statisticiens d'autre part, est indispensable au développement rapide et sûr, tant scientifique que médical, de l'immunothérapie.

Le Président de la Thèse

[Signature]

M. le Professeur M. MAYER

VU et PERMIS D'IMPRIMER

LYON, le 20 MAI 1977

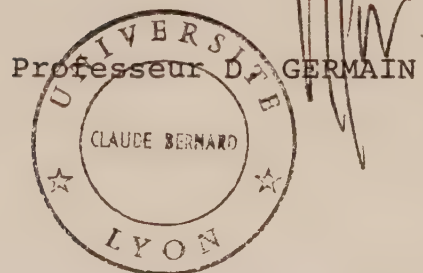
Le Président de l'Université
Claude Bernard LYON I

[Signature]

Le Directeur
de l'U.E.R. LYON-NORD

[Signature]

Professeur NEIDHART



BIBLIOGRAPHIE
=====

- 1-ADLER F.L. (1973) Summary of workshop on RNA transfer of immunity. Ann. N.Y.Acad.Sci. 207, 489-492.
- 2-ALEXANDER P. (1967) Immunotherapy of leukemia: the use of different classes of immune lymphocytes. Cancer Res. 27, 2521-2526.
- 3-ALEXANDER P., DELORME E.J. et HALL J.G. (1966) The effect of lymphoid cells from the lymph of specifically immunized sheep on the growth of primary sarcomata in rats. Lancet i, 1186-1189.
- 4-ALEXANDER P., DELORME E.J., HAMILTON L.D.G. et HALL J.G. (1967) Effect of nucleic acids from immune lymphocytes on rat sarcomata. Nature 213, 569-572.
- 5-ALGHAZZOULI I.K., DONAHOE R.M., HUANG K.Y., SASS B., PETERS R.L. et KELLOFF G.J. (1976) Immunity to virus free syngeneic tumor cell transplantation in BALB/c mouse after immunization with homologous tumor cells infected with type C virus. J.Immunol. 117, 2239-2248.
- 6-AMIEL J.L. (1974) Approaches to immunotherapy. Proceed.XI Int. Cancer Congress, Florence 1, 324-326.
- 7-AMINO N., PYSHER T., COHEN E.P. et DEGROOT L.J. (1975) Immunologic aspects of human thyroid cancer; humoral and cell-mediated immunity and a trial of immunotherapy. Cancer 36, 963-973.
- 8-ANDREWS G.A., CONGDON C.C., EDWARDS C.L., GENGOZIAN N., NELSON B. et VODOPICK H. (1967) Preliminary trials of clinical immunotherapy. Cancer Res. 27, 2535-2541.
- 9-ANKERST J., BEVERIDGE W.I.B., DORE J.F., GODAL T., HILLEMANN M.R. KITAGAWA M., KURTH R., LEWIS M.G., OLSON C. OWEN L.N. et STJERNSTWARD J. (1973) Immunity to cancer. Naturally occurring tumours in domestic animals as models for research I. Bull.Wld.Hlth.Org. 49, 81-91.
- 10-ANKERST J., BEVERIDGE W.I.B., DORE J.F., GODAL T., HILLEMANN M.R. KITAGAWA M., KURTH R., LEWIS M.G., OLSON C. OWEN L.N. et STJERNSTWARD J. (1973) Immunity to cancer. Naturally occurring tumours in domestic animals as models for research II. Bull.Wld.Hlth.Org. 49, 205-213.
- 11-BAKER M.A. et TAUB R.N. (1973) Immunotherapy of human cancer. Prog.Allergy 17, 227-299.
- 12-BAKER M.A. et TAUB R.N. (1976) Platelet-induced tolerance in the production of heteroantisera to human leukaemia associated antigens. J.Immunol.Meth. 10, 171-175.
- 13-BALDWIN R.W. (1975) In vitro assays of cell mediated immunity to human solid tumours. Problems of quantitation, specificity and interpretation. J.Natl.Cancer Inst. 55, 745-748.
- 14-BALDWIN R.W. (1976) Relevant animal models for tumour immunotherapy. Cancer Immunol.Immunother. 1, 197-198.

- 15-BALDWIN R.W., EMBLETON M.J. et MOORE M. (1973) Immunogenicity of rat hepatoma membrane fractions. *Brit.J.Cancer* 28, 389-399.
- 16-BALDWIN R.W., PRICE M.R. et ROBINS R.A. (1972) Blocking of lymphocyte mediated cytotoxicity for rat hepatoma cells by tumour specific antigen-antibody complexes. *Nature (N.B.)* 238, 185-187.
- 17-BALE W.F., CONTRERAS M.A., IZZO M.J., PENTA D.D. et BUCHSBAUM D.J. (1974) Preferential in vivo localization of ¹²⁵I labeled antibody in a carcinogen-induced syngeneic rat tumor. *Prog.Exp.Tumor Res.* 19, 270-283.
- 18-BARTLETT G.L., KREIDER J.W. et PURNELL D.M. (1976) Immunotherapy of cancer in animals: models or muddles. *J.Natl.Cancer Inst.* 56, 207-210.
- 19-BAST R.C., BAST B.S. et RAPP H.J. (1976) Critical review of previously reported animal studies of tumor immunotherapy with non specific immunostimulants. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 277, 60-93.
- 20-BAUER H. (1974) Virion and tumor cell antigens of C type RNA tumor viruses. *Adv.Cancer Res.* 20, 275-341.
- 21-BEATTY P.G., KIM B.S., ROWLEY D.A. et COPPLESON L.W. (1976) Antibody against antigen receptor of a plasmacytoma prolongs survival of mice bearing tumor. *J.Immunol.* 116, 1391-1396.
- 22-BEKESI J.G. et HOLLAND J.F. (1974) Combined chemotherapy and immunotherapy of transplantable and spontaneous murine leukemia in DBA/2 and AKR mice. *Rec.Results Cancer Res.* 47, 357-369.
- 23-BEKESI J.G., ROBOZ J.P. et HOLLAND J.F. (1976) Therapeutic effectiveness of neuraminidase treated tumor cells as an immunogen in man and experimental animals with leukemia. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 277, 313-331.
- 24-BEKESI J.G., ROBOZ J.P., WALTER L. et HOLLAND J.F. (1974) Stimulation of specific immunity against cancer by neuraminidase treated tumor cells. *Behring Inst.Mitt.* 55, 309-321.
- 25-BEKESI J.G., ROBOZ J.P., ZIMMERMAN E. et HOLLAND J.F. (1976) Treatment of spontaneous leukemia in AKR mice with chemotherapy, immunotherapy or interferon. *Cancer Res.* 36, 631-639.
- 26-BENJAMINI E., THEILEN G.H., TORTEN M., FONG S., CROW S. et HENNESS A.M. (1976) Tumor vaccines for immunotherapy of canine lymphosarcoma. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 277, 305-312.
- 27-BERENSON J.R., EINSTEIN A.B. et FEFER A. (1975) Syngeneic adoptive immunotherapy and chemoimmunotherapy of a Friend leukemia: requirement for T cells. *J.Immunol.* 115, 234-238.
- 28-BERNSTEIN I.D. (1977) Passive transfer of systemic tumor immunity with cells generated in vitro by a secondary immune response to a syngeneic rat Gross virus induced lymphoma. *J.Immunol.* 118, 122-128.

- 29-BERNSTEIN I.D., WRIGHT P.W. et COHEN E. (1976) Generation of cytotoxic lymphocytes in vitro: response of immune rat spleen cells to a syngeneic Gross virus induced lymphoma in mixed lymphocyte tumor culture. *J.Immunol.* 116, 1367-1372.
- 30-BEVERLEY P.C.L., LOWENTHAL R.M. et TYRREL D.A.J. (1973) Immune response in mice to tumour challenge after immunisation with New Castle disease virus infected of X irradiated tumour cells or cell fractions. *Int.J.Cancer* 11, 212-223.
- 31-BIDDLE C. (1976) Stimulation of transplanted 3-methylcholanthrene induced sarcomas in mice by specific immune and by normal serum. *Int.J.Cancer* 17, 755-764.
- 32-BLUMING A.G. (1975) Current status of clinical immunotherapy. *Cancer Chemoth.Reps.* 59, 901-914.
- 33-BOMFORD R. (1975) Active specific immunotherapy of mouse methylcholanthrene induced tumours with *Corynebacterium parvum* and irradiated tumour cells. *Brit.J.Cancer* 32, 551-557.
- 34-BONMASSAR E., TESTORELLI C., RANCO P., GOLDIN A. et CUDKOWICZ G. (1975) Changes of the immunogenic properties of a radiation induced mouse lymphoma following treatment with antitumour drugs. *Cancer Res.* 35, 1957-1962.
- 35-BOONE C.W. (1974) Helper antigen augmentation of tumor transplantation antigen activity using influenza and vesicular stomatitis viruses. *Proc.XI Intern. Cancer Congress, Florence* 1, 337-339.
- 36-BOONE C., BLACKMAN K. et BRANDCHAFT P. (1971) Tumour immunity induction in mice by cell free homogenates of tumour cells infected with influenza virus. *Nature* 231, 265-266.
- 37-BORSOS T., BAST R.C., OHANIAN S.H., SEGERLING M., ZBAR B. et RAPP H.J. (1976) Induction of tumor immunity by intratumoral chemotherapy. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 276, 565-572.
- 38-BORTIN M.M., RIMM A.A., RODEY G.E., GILLER R.H. et SALTZSTEIN E.C. (1974) Prolonged survival in long-passage AKR leukemia using chemotherapy, radiotherapy and adoptive immunotherapy. *Cancer Res.* 34, 1851-1856.
- 39-BORTIN M.M., RIMM A.A., ROSE W.C. et SALTZSTEIN E.C. (1974) Graft-versus leukaemia. V Absence of antileukemic effect using allogeneic H2 identical immunocompetent cells. *Transpl.* 18, 280-283.
- 40-BORTIN M.M., ROSE W.C., TRUITT R.L., RIMM A.A., SALTZSTEIN E.C. et RODEY G.E. (1975) Graft versus leukaemia 6 Adoptive immunotherapy in combination with chemoradiotherapy for spontaneous leukaemia lymphoma in AKR mice. *J.Natl.Cancer Inst.* 55, 1227-1229.
- 41-BOURDON G. et HALPERN B. (1976) Tumour immunity induced by administration of heat treated tumour cells. *C.R.Acad.Sci.* 282, 1571-1574.

- 42-BOYLE M.D.P., OHANIAN S.H. et BORSOS T. (1976) Lysis of tumor cells by antibody and complement. 6 Enhanced killing of enzyme pre-treated tumor cells. *J.Immunol.* 116, 661-668.
- 43-BOYLE M.D.P. et ORMEROD M.G. (1975) The destruction of allogeneic tumor cells by peritoneal macrophages from immune mice: purification of lytic effector cells. *Cell.Immunol.* 17, 247-258.
- 44-BOYLE M.D.P. et ORMEROD M.G. (1975) The destruction of tumor cells by alloimmune peritoneal cells: mechanism of action of activated macrophages in vitro. *J.Reticuloend.Soc.* 17, 73-83.
- 45-BOYSE E.A., OLD L.J. et STOCKERT E. (1962) Immunological enhancement of a leukemia. *Nature* 194, 1142-1144.
- 46-BRANDES L.J. et GOLDENBERG G.J. (1974) In vitro transfer of cellular immunity against nasopharyngeal carcinoma using transfer factor from donors with Epstein-Barr virus antibody activity. *Cancer Res.* 34, 3095-3101.
- 47-BURTON R., THOMSON J. et WARNER N.L. (1975) In vitro induction of tumour specific immunity. I Development of optimal conditions for induction and assay of cytotoxic lymphocytes. *J.Immunol.Meth.* 8, 133-150.
- 48-BYERS V.S., LEVIN A.S., LECAM L., JOHNSTON J.O. et HACKETT A.J. (1976) Tumor specific transfer factor therapy in osteogenic sarcoma: a two years study. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 277, 621-627.
- 49-BYFIELD J.E., ZERUBAVEL R. et FONKALSRUD E.W. (1976) Murine neuroblastoma cured in vivo by an antibody-dependant cellular cytotoxicity reaction. *Nature* 264, 783-785.
- 50-CAMPANILE F., HOUCHEMS D.P., GASTON M., GOLDIN A. et BONMASSAR E. (1975) Increased immunogenicity of two lymphoma lines after drug treatment of athymic (nude) mice. *J.Natl.Cancer Inst.* 55, 207-210.
- 51-CANTRELL J.L., KILLION J. et KOLLMORGEN G.M. (1976) Correlation between humoral immunity and successful chemotherapy-immunotherapy. *Cancer Res.* 36, 3051-3057.
- 52-CARNAUD C., ILFELD D., LEVO Y. et TRAININ N. (1974) Enhancement of 3LL tumor growth by autosenitized T lymphocytes independent of the host lymphatic system. *Int.J.Cancer* 14, 168-175.
- 53-CARTER S.K. (1976) Immunotherapy of cancer in man: current status and prospectus. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 277, 722-740.
- 54-CARTER S.K. (1976) The current status of clinical immunotherapy as viewed at the 1976 AACR-ASCO meetings. *Cancer Immunol.Immunother.* 1, 275-281.
- 55-CHANG K.S.S., LAW L.W. et APPELLA E. (1975) Distinction between tumor specific transplantation antigen and virion antigens insolubilized products from membranes of virus induced leukemic cells. *Int.J.Cancer* 15, 483-492.

- 56-CHESTER S.J., ESPARZA A.R. et ALBALA M.M. (1975) Graft versus leukemia without fatal graft versus host disease in AKR mice. *Cancer Res.* 35, 637-639.
- 57-CIKES M. (1975) Antigenic changes in cultured murine lymphomas after retransplantation into syngeneic hosts. *J.Natl.Cancer Inst.* 54, 903-906.
- 58-CLANCY R.L., GAULDIE J., VALLIERES M., BIEHENSTOCK J., DAY R.P. et PINEO G.F. (1976) An approach to immunotherapy using antibody to IgE in mast cell leukemia. *Cancer* 37, 693-696.
- 59-COGGIN J.H., AMBROSE K.R. et ANDERSON N.G. (1970) Fetal antigen capable of inducing transplantation immunity against SV40 hamster tumor cells. *J.Immunol.* 105, 524-526.
- 60-COHEN J.M. et LAW L.W. (1974) Tumor facilitation in a syngeneic host tumor system. *Proc.Soc.Exp.Biol.Med.* 147, 744-748.
- 61-COUDERT A., DORE J.F., HUCHET R., GUIBOUT C. et SANTANA C. (1976) Increased in cell surface antigen expression by leukemic cells following in vitro treatment with papain. *Eur.J.Cancer* 12, 475-479.
- 62-CURRIE G. (1976) Immunological aspects of hosts resistance to the development and growth of cancer. *Biochem.Bioph.Acta* 458, 135-166.
- 63-CURRIE G.A. et BAGSHAW K.D. (1969) Tumor specific immunogenicity of methylcholanthrene-induced sarcoma cells after incubation in neuraminidase. *Brit.J.Cancer* 23, 141-149.
- 64-DAUPHINEE M.J., TALAL N. et WITZ I.P. (1974) Generation of non complement fixing blocking factors by lysosomal extract treatment of cytotoxic antitumor antibodies. *J.Immunol.* 113, 948-953.
- 65-DAVIES D.A.L. (1974) The combined effect of drugs and tumor specific antibodies in protection against a mouse lymphoma. *Cancer Res.* 34, 3040-3043.
- 66-DAVIES D.A.L., BUCKHAM S. et MANSTONE A.J. (1974) Protection of mice against syngeneic lymphomata: II Collaboration between drugs and antibodies. *Brit.J.Cancer* 30, 305-311.
- 67-DAVIES D.A.L., MANSTONE A.J. et BUCKHAM S. (1974) Protection of mice against syngeneic lymphomata: I Use of antibodies. *Brit.J.Cancer* 30, 297-304.
- 68-DAVIES D.A.L. et O'NEILL G.J. (1973) In vivo and in vitro effects of tumor specific antibodies with chlorambucil. *Brit.J.Cancer* 28 (Suppl.I), 285-298.
- 69-DAVIES D.A.L. et O'NEILL G.J. (1974) Methods of cancer immuno-chemotherapy (DRAB and DRAC) using antisera against tumour specific cell membrane antigen. *Proc.XI Intern.Cancer Congress,Florence* 1, 218-221.

- 70-DAVIES D.A.L. et O'NEILL G.J. (1976) Specific cancer therapy by drugs attached to tumor specific antibodies. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 277, 670-670.
- 71-DAVIES I., NICKLIN M.G. et AUGUSTIN R. (1975) Protective tumor cell ghosts with intact membranes markers. *Nature* 256, 49-50.
- 72-DEAN J.H., MCCOY J.L., LAW L.W., MAURER B.A. et APPELLA E. (1975) Cellular immune reactivity in vitro and tumor rejection provided by tumor associated antigens of Friend virus induced leukemia. *Int.J.Cancer* 16, 701-712.
- 73-DE CARVALHO S. (1963) Preliminary experimentation with specific immunotherapy of neoplastic disease in man. I Immediate effects of hyperimmune gammaglobulins. *Cancer* 16, 306-330.
- 74-DE CARVALHO S. (1973) Natural history of congenital leukemia. An experiment of nature revealing unexplored features of fetal maternal isoimmunity. Longest recorded survival following use of leukemostatic maternal isoantibody. *Oncology* 27, 52-63.
- 75-DECKERS P.J. et PILCH Y.H. (1972) Mediation of immunity to tumor specific transplantation antigens by RNA inhibition of isograft growth in rats. *Cancer Res.* 32, 839-846.
- 76-DECKERS P.J., RAMMING K.P. et PILCH Y.H. (1973) The transfer of tumor immunity with syngeneic RNA. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 207, 442-453.
- 77-DECKERS P.J., WANG B.S. et MANNICK J.A. (1976) Immunotherapy of tumors with immune RNA. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 277, 575-591.
- 78-DECKERS P.J., WANG B.S., STUART P.A. et MANNICK J.A. (1975) The augmentation of tumor specific immunity with immune RNA. *Transpl.Proc.* 7, 259-263.
- 79-DENOTTER W., RUNHAAR B.A., RUITENBEEK A., et DULLENS H.F.J. (1974) Site dependant differences in rejection of tumor cells with and without preimmunisation. *Europ.J.Immunol.* 4, 444-446.
- 80-DODD M.C., SCHEETZ M.E. et ROSSIO J.L. (1973) Immunogenic RNA in the immunotherapy of cancer: the transfer of antitumor cytotoxic activity and tuberculin sensitivity to human lymphocytes using xenogeneic ribonucleic acid. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 207, 454-467.
- 81-DORE J.F., AJURIA E. et MATHE G. (1970) Non leukaemic AKR mice are not tolerant to cells of leukaemia induced by Gross virus. *Rev.Europ.Etud.Clin.Biol.* 15, 81-84.
- 82-DORE J.F., HADJIYANNAKIS M.J., GUIBOUT C., COUDERT A., MARHOLEV L. et IMAI K. (1974) Use of enzyme-treated cell in immunotherapy of a murine leukemia. *Behring Inst.Mitt.* 55, 326-328.
- 83-DRAKE W.P. et MARDINEY M.R. (1973) The enhancement of antitumor antibody binding to cross-reactive normal tissue antigens; a complement mediated effect. *Transplantation* 16, 189-198.
- 84-DRAKE W.P. et MARDINEY M.R. (1974) Parameters of serum complement in relation to tumor therapy. *Biomedicine* 21, 206-209.

85-DRAKE W.P. et MARDINEY M.R. (1975) Complement mediated alteration of antibody specificity in vivo. *J.Immunol.* 114, 1052-1057.

86-DRAKE W.P., ROBERTS G.C., PENDERGRAST W.J. et MARDINEY M.R. (1975) The kinetics of the interaction of heterologous antitumor serum or serum and heterologous complement in non tumor bearing mice. *Biomedicine* 22, 502-508.

87-DRAPKIN M.S., APPELLA E. et LAW L.W. (1974) Immunogenic properties of a soluble tumor specific transplantation antigen induced by simian virus 40. *J.Natl.Cancer Inst.* 52, 259-264.

88-DUC H.T., KINSKY R.G., KANELLOPOULOS J. et VOISIN G.A. (1975) Biologic properties of transplantation immune sera. IV Influence of the course of immunization, dilution and complexing to antigen on enhancing activity of Ig classes. *J.Immunol.* 115, 1143-1147.

89-DUC H.T., KINSKY R.G. et VOISIN G. (1973) Enhancing effect of immunocomplexes on tumor allografts. *Ann.Immunol.* 124c, 567-572.

90-DULLENS H.F.J. et DENOTTER W. (1974) Therapy with allogeneic immune peritoneal cells. *Cancer Res.* 34, 1726-1730.

91-Editorial (1972) Neuraminidase and regression of solid tumour. *Lancet* i, 523-524.

92-EGAWA K. et TANINO T. (1976) The induction of immunity against tumor cell transplantation with a complex of tumor cell surface substance and a serum component found in the tumor regressor animals. *Int.J.Cancer* 17, 725-729.

93-EHRLICH P. (1906) Collected studies on immunity. 2, 442-447. New York : John Wiley and sons Inc.

94-EINSTEIN A.B., CHEVEER M.A. et FEFER A. (1976) Use of dimethyl-myleran in adoptive chemoimmunotherapy of two murine leukemias. *J.Natl.Cancer Inst.* 56, 609-614.

95-EINSTEIN A.B., CHEEVER M.A. et FEFER A. (1976) Induction of increased graft versus host disease by mouse spleen cells sensitized in vitro to allogeneic tumor. *Transplantation* 22, 589-594.

96-ELLMAN L., KATZ D.H., GREEN I., PAUL W.E. et BENACERRAF B. (1972) Mechanism involved in the antileukemic effect of immunocompetent allogeneic lymphoid cell transfer. *Cancer Res.* 32, 141-148.

97-ELOY R., VUITTON D., VAULTIER J.P., POUSSE A. et GRENIER J.F. (1976) Decreased graft versus host reaction after intra-hepatic lymphoid tissue implantation. *Cell.Immunol.* 21, 236-242.

98-EPSTEIN M.A. (1975) Towards an antiviral vaccine for a human cancer. *Nature* 253, 6-7.

99-EUSTACHE J.C. et IRVIN G.L. (1973) Immunological tumor enhancement and in vitro cytotoxicity. Further evidence for the involvement of 7 S γ 2a immunoglobulin. *Transplantation* 16, 171-176.

100-FAHEY J.L., BROSMAN S., OSSORIO R.C., O'TOOLE C. et ZIGHELBOIM J. (1976) Immunotherapy and human tumor immunology. *Ann.Int.Med.* 84, 454-465.

101-FAKHRI O. et HOBBS J.R. (1972) Target cell death without added complement after cooperation of 7 S antibodies with non-immune lymphocytes. *Nature (N.B.)* 235, 177-178.

102-FAKHRI O. et HOBBS J.R. (1973) Overcoming some limiting factors in tumour immunotherapy. *Brit.J.Cancer* 28, 1-5.

103-FAVRE R., CARCASSONNE Y. et MEYER G. (1975) Loss of antitumour immunogenicity of a somatic cell hybrid line with increasing subculture. *Brit.J.Cancer* 32, 139-144.

104-FAVRE R., FILIPCZYK J., BEREBI M. et MEYER G. (1974) Protection afforded by hybrid cells against the inoculation of parental tumour line. *Ann.Immunol.* 125c, 491-498.

105-FAWWAZ R.A., TENFORDE T.S. et MEHLBERG W.H. (1975) Carbodiimide enhancement of complement dependant antibody mediated tumor cell lysis in vitro and antitumor activity in vivo. *Cancer Res.* 35, 679-686.

106-FEFER A. (1969) Immunotherapy and chemotherapy of Moloney sarcoma virus induced tumors in mice. *Cancer Res.* 29, 2177-2183.

107-FEFER A. (1973) Treatement of a Moloney lymphoma with cyclophosphamide and H2 incompatible spleen cells. *Cancer Res.* 33, 641-644.

108-FEFER A., EINSTEIN A.B. et CHEEVER M.A. (1976) Adoptive chemoimmunotherapy of cancer in animals: a review of results, principles and problems. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 277, 492-504.

109-FEFER A., EINSTEIN A.B., CHEEVER M.A. et BERENSON J.R. (1976) Models for syngeneic adoptive chemoimmunotherapy of murine leukemias. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 276, 573-583.

110-FEFER A., THOMAS E.D., BUCKNER C.D., CHEEVER M.A., CLIFT R.A., EINSTEIN A.B., NEIMAN P.E., STORB R. et WEIDEN P.L. (1976) Marrow transplantation for acute leukemia in man. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 277, 52-59.

111-FENNELLY J.J., McBRIDE A. et O'CONNELL L.G. (1976) Maintenance immunotherapy of acute non lymphocytic leukaemia using unirradiated blasts cells and BCG. *Biomedicine* 25, 198-199.

112-FIALKOW P.J., THOMAS E.D., BRYANT J.I. et NEIMAN P.E. (1971) Leukemic transformation of engrafted human marrow cells in vivo. *Lancet* i, 251-255.

113-FIDLER I.J. (1974) Inhibition of pulmonary metastasis by intravenous injection of specifically activated macrophages. *Cancer Res.* 34, 1074-1078.

114-FINK M.P., PARKER C.W. et SHEARER W.T. (1975) Antibody stimulation of tumour growth in T cell depleted mice. *Nature* 255, 404-405.

- 115-FLECHNER I. (1973) The cure and concomitant immunization of mice bearing Ehrlich ascites tumours by treatment with antibody-alkylating agent complex. *Europ.J.Cancer* 9, 741-746.
- 116-FLICKINGER R.A., et TROST S.R. (1976) Cytotoxicity of antibody-phospholipase C conjugates on cultured Friend leukemia cells. *Europ.J.Cancer* 12, 159-160.
- 117-FORNI G. et COMOGLIO P.M. (1974) Effect of solubilized membrane antigens and tumour bearer serum on tumour growth in syngeneic hosts. *Brit.J.Cancer* 30, 365-369.
- 118-FRIEDMAN H. (1976) Protective immunity in leukemic mice treated with specific "immunogenic" RNA. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 277, 708-715.
- 119-FROESE G., BERCZI I. et SEHON A.H. (1974) Neuraminidase induced enhancement of tumor growth in mice. *J.Natl.Cancer Inst.* 52, 1905-1908.
- 120-FROST P., EDWARDS A. et SANDERSON C. (1976) Discussion paper: the use of glutaraldehyde fixation for study of the immune response to syngeneic tumor antigen. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 276, 91-96.
- 121-FROST P. et SANDERSON C.J. (1975) Tumor immunoprophylaxis in mice using glutaraldehyde treated syngeneic tumor cells. *Cancer Res.* 35, 2646-2651.
- 122-FUDENBERG H.H. (1976) Dialysable transfer factor in the treatment of human sarcoma: an analytic review. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 277, 545-557.
- 123-FUJIMOTO S., GREENE M.I. et SEHON A.H. (1976) Regulation of the immune response to tumor antigens. I Immunosuppressor cells in tumor bearing hosts. *J.Immunol.* 116, 791-799.
- 124-FUJIMOTO S., GREENE M.I. et SEHON A.H. (1976) Regulation of the immune response to tumor antigens. II The nature of the immunosuppressor cells in tumor bearing hosts. *J.Immunol.* 116, 800-806.
- 125-GABIZON A., SMALL M. et TRAININ N. (1976) Kinetics of the response of spleen cells from tumor bearing animals in an in vivo tumor neutralization assay. *Int.J.Cancer* 18, 813-819.
- 126-GERNER R.E. et MOORE G.E. (1976) Feasibility study of active immunotherapy in patients with solid tumors. *Cancer* 38, 131-143.
- 127-GHOSE T. et GUCLU A. (1974) Cure of a mouse lymphoma with radioiodinated antibody. *Europ.J.Cancer* 10, 787-792.
- 128-GHOSE T., GUCLU A. et TAI J. (1975) Suppression of an AKR lymphoma by antibody and chlorambucil. *J.Natl.Cancer Inst.* 55, 1353-1357.
- 129-GHOSE T., GUCLU A., TAI J., NORWELL S.T. et MACDONALD A.S. (1976) Active immunoprophylaxis and immunotherapy in two mouse lymphoma models. *J.Natl.Cancer Inst.* 57, 303-315.

- 130-GHOSE T., GUCLU A., TAI J., MACDONALD A.S., NORWELL S.T. et AQUINO J. (1975) Antibody as carrier of ^{131}I in cancer diagnosis and treatment. *Cancer* 36, 1646-1657.
- 131-GHOSE T. et NIGHAM S.P. (1972) Antibody as carrier of chlorambucil. *Cancer* 29, 1398-1400.
- 132-GHOSE T., NORWELL S.T., GUCLU A. et MACDONALD A.S. (1975) Immunotherapy of human malignant melanoma with chlorambucil carrying antibody. *Europ.J.Cancer* 11, 321-326.
- 133-GHOSE T., TAI J., GUCLU A., NORWELL S.T., BODURTHA A., AQUINO J. et MACDONALD A.S. (1976) Antibodies as carriers of radionuclides and cytotoxic drugs in the treatment and diagnosis of cancer. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 277, 671-689.
- 134-GILETTE R.W. et BOONE C.W. (1976) Augmented immunogenicity of tumor cell membranes produced by surface budding viruses: parameters of optimal immunization. *Int.J.Cancer* 18, 216-222.
- 135-GLASER M., LAVRIN D.H. et HERBERMAN R.B. (1976) In vivo protection against syngeneic Gross virus induced lymphoma in rats. Comparison with in vitro studies of cell mediated immunity. *J.Immunol.* 116, 1507-1511.
- 136-GLYNN J.P. et KENDE M. (1971) Treatment of Moloney virus induced leukemia with cyclophosphamide and specifically sensitized allogeneic cells. *Cancer Res.* 31, 1383-1388.
- 137-GORCZYNSKI R.M. (1974) Evidence for in vivo protection against murine sarcoma virus induced tumors by T lymphocytes from immune animals. *J.Immunol.* 112, 533-539.
- 138-GORCZYNSKI R.M. et KNIGHT R.A. (1975) Cell-mediated immunity to Moloney sarcoma virus in mice. II Analysis of antigenic specificities involved in T lymphocyte mediated in vivo rejection of murine sarcoma virus induced tumors. *Europ.J.Immunol.* 5, 148-154.
- 139-GORCZYNSKI R.M. et NORBURY C. (1974) Immunity to murine sarcoma virus induced tumors. III Analysis of the cell population involved in protection from lethal tumor progression of sublethally irradiated MSV inoculated mice. *Brit.J.Cancer* 30, 118-128.
- 140-GORER P.A. et AMOS D.B. (1956) Passive immunity of mice against C57BL leukemia EL4 by means of iso-immune serum. *Cancer Res.* 16, 338-343.
- 141-GOTHODA E., SENDO F., HOSOKAWA M., KODAMA T. et KOBAYASHI H. (1974) Combination of active and passive immunization and chemotherapy to transplantation of methylcholanthrene induced tumor in WKA rats. *Cancer Res.* 34, 1947-1951.
- 142-GRANT C.K. (1976) Complement origin determines lytic activity of antibodies to nucleated target cells. Comparison of common complement sources. *Transplantation* 21, 323-330.

143-GREEN A.A., PRATT C., WEBSTER R.G. et SMITH K. (1976) Immunotherapy of osteosarcoma patients with virus modified tumor cells. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 277, 396-411.

144-GREENBERGER J.S., STEPHENSON J.R., AOKI T. et AARONSON S.A. (1974) Cell surface antigens of murine sarcoma virus transformed non producer cells: further evidence for lack of transplantation immunity. *Int.J.Cancer* 14, 145-152.

145-GREGORIADIS G. et NEERUNJUN E.D. (1976) Homing of liposomes to target cells. *Biochem.Bioph.Res.Comm.* 65, 537-544.

146-GREGORIADIS G. et ALLISON A.C. (1976) Liposomes as immunological adjuvants. *Rec. Results Cancer Res.* 56, 58-64.

147-GRIFFITH I.P., CROOK N.E. et WHITE D.O. (1975) Protection of mice against cancer by immunization with membranes but not purified virions from virus infected cancer cells. *Brit.J.Cancer* 31, 603-613.

148-GROSS L. (1943) Intradermal immunization of C3H mice against a sarcoma that originated in an animal of the same line. *Cancer Res.* 3, 326-333.

149-GUCLU A., GHOSE T., TAI J. et MAMMEN M. (1976) Binding of chlorambucil with antitumor globulins and its effect on drug and antibody activities. *Europ.J.Cancer* 12, 95-100.

150-HAN T., TAKITA H., MARABELLA P.C. et MITTELMAN A. (1975) In vitro transfer of tumour specific immunity with human "immune"RNA. *Clin.Exp.Imunol.* 19, 219-221.

151-HASEK M., CHUTNA J., SLADCEK M., MACHCKOVA M., BUBENIK J. et MATOUSEK V. (1975) Attempts to compare the effectiveness of blocking factors and enhancing antibodies in vivo and in vitro. *Transplantation* 20, 95-100.

152-HASKILL J.S. et FETT J.W. (1976) Possible evidence for antibody dependent macrophage mediated cytotoxicity directed against murine adenocarcinoma cells in vivo. *J.Immunol.* 117, 1992-1998.

153-HEDING L.D., SCHALLER J.P., BLAKESLEE J.R. et OLSEN R.G. (1976) Inactivation of tumor cell associated feline oncornavirus for preparation of an infectious virus free tumor cell immunogen. *Cancer Res.* 36, 1647-1653.

154-HELLSTRÖM I., HELLSTRÖM K.E., PIERCE G.E. et FEFER A. (1969) Studies on immunity to autochthonous mouse tumors. *Transpl.Proc.* 1, 90-94.

155-HEPPNER G., HENRY E., STOLBACH L., CUMMINGS F., McDONOUGH E. et CALABRESI P. (1975) Problems in the clinical use of the microcytotoxicity assay for measuring cell mediated immunity. *Cancer Res.* 35, 1931-1937.

156-HERICOURT J. et RICHET C. (1895) Traitement d'un cas de sarcome par la sérothérapie. *C.R.Acad.Sci.* 120, 948-950.

- 157-HERICOURT J. et RICHET C. (1895) De la serotherapie dans le traitement du cancer. C.R.Acad.Sci. 121, 567-569.
- 158-HERSCOWITZ H.B. et STELOS P. (1973) Immunogenicity of mouse spleen RNA. Ann.N.Y.Acad.Sci. 207, 104-121.
- 159-HERSEY P. (1973) New look at antiserum therapy of leukaemia. Nature (N.B.) 244, 22-24.
- 160-HOLDEN H.T., HASKILL J.S., KIRCHNER H. et HERBERMAN R.B. (1976) Two functionally distinct antitumor effector cells isolated from primary murine sarcoma virus induced tumors. J.Immunol. 117, 440-446.
- 161-HOLMES E.C., ELBER R. et MORTON D.L. (1975) Immunotherapy of malignancy in humans. J.Amer.Med.Assoc. 232, 1052-1058.
- 162-HOSOKAWA M., IMAMURA M., OIKAWA T., NAKAYAMA M., GOTHODA E., SENDO F., KODOMA T. et KOBAYASHI H. (1976) Inhibition of growth of syngeneic tumor in rats immunized with allogeneic skin grafts. Int.J.Cancer 18, 369-374.
- 163-HOSOKAWA M., MIHICH E., WATANABE T. et PRESSMAN D. (1975) Effect of antimyeloma cell antiserum on immunological enhancement. Cancer Res. 35, 591-595.
- 164-HOWELL S.B., DEAN J.H., ESBER E.C. et LAW L.W. (1974) Cell interactions in adoptive immune rejection of a syngeneic tumor. Int.J.Cancer 14, 662-674.
- 165-HUDSON C.N., LEVIN L., MCHARDY J.E., POULTON T.A., CURLING O.M., CROWTHER M., ENGLISH P.E. et LEIGHTON M. (1976) Active specific immunotherapy for ovarian cancer. Lancet ii, 877-879.
- 166-HUEBNER R.J., GILDEN R.V., LANE W.T., TONI R., TRIMMER R.W. et HILL P.R. (1976) Suppression of murine type C RNA virogens by type specific oncornavirus vaccines. Prospects for prevention of cancer. Proc.Nat.Acad.Sci. 73, 620-624.
- 167-HUEBNER R.J., GILDEN R.V., TONI R., HILL R.W., TRIMMER R.W., FISH D.C. et SASS B. (1976) Prevention of spontaneous leukemia in AKR mice by type specific immunosuppression of endogenous ecotropic virogenes. Proc.Nat.Acad.Sci. 73, 4633-4635.
- 168-HUNSMANN G., MOENNING V. et SCHAFER W. (1975) Properties of mouse leukemia viruses. IX Active and passive immunization of mice against Friend leukemia with isolated viral gp71 glycoprotein and its corresponding antiserum. Virology 66, 327-329.
- 169-HUNTER R.L. et STICKLAND F. (1975) Immunization with a lipid conjugated membrane antigen to suppress growth of a fibrosarcoma induced by simian virus 40. J.Natl.Cancer Inst. 54, 1157-1164.
- 170-HURWITZ E., LEVY R., MARON R., WILCHECK M., ARNON R. et SELA M. (1975) The covalent binding of daunomycin and adriamycin to antibodies, with retention of both drug and antibody activities. Cancer Res. 35, 1175-1181.

171-IVINS J.C., RITTS R.E., PRITCHARD D.J., GILCHRIST G.S., MILLER G.C. et TAYLOR W.F. (1976) Transfer Factor versus combination chemotherapy: a preliminary report of a randomized postsurgical adjuvant treatment study in osteogenic sarcoma. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 277, 558-574.

172-IZZO M.I. et BALE W.F. (1976) Preferential localisation and rate of loss of labeled alloantibody from rat tumors and skin transplant carrying the corresponding alloantigen. *Cancer Res.* 36, 2868-2874.

173-JAMI J. et RITZ E. (1975) Tumor associated transplantation antigens in immune rejection of mouse malignant cell hybrids. *Proc.Nat.Acad.Sci.* 72, 2130-2134.

174-JARRETT W., JARRETT O., MACKEY L., LAIRD H., HOOD C. et HAY D. (1975) Vaccination against feline leukemia virus using a cell membrane antigen system. *Int.J.Cancer* 16, 134-141.

175-JEEJEEBHOY H.F., DELORME E.J. et ALEXANDER P. (1966) The anti-tumour effect of lymphoid cells placed in millipore diffusion chambers. *Transplantation* 4, 397-403.

176-JEWELL W.R., THOMAS J.H., MORSE P. et HUMPHREY L.J. (1976) Comparison of allogeneic tumor vaccine with leukocyte transfer and transfer factor treatment of human cancer. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 277, 516-521.

177-JOHANSEN R. et SEDLACEK H.H. (1974) Specificity of cytotoxic antibodies to autologous human lymphocytes treated with neuraminidase from vibrio cholerae. *Behring Inst.Mitt.* 55, 209-215.

178-JOHNSON T.S., HUDSON J.L., FELDMAN M.E. et IRVIN G.L. (1975) Immunoprophylaxis and cytotoxic effectors cells against EL4 leukemia induced in syngeneic C57BL/6J mice by use of irradiated EL4 cells. *J.Natl.Cancer Inst.* 55, 561-568.

179-JOLLEY G.M., BOYLE M.D.P. et ORMEROD M.G. (1976) The destruction of allogeneic tumor cells by antibody and adherent cells from peritoneal cavities of mice. *Cell.Immunol.* 22, 262-270.

180-KALISS N. (1958) Immunological enhancement of tumor homograft in mice. A review. *Cancer Res.* 18, 992-1003.

181-KALISS N., SINCLAIR N.R. et CANTRELL J.L. (1976) Immunological enhancement of a murine tumor allograft by passive alloantibody IgG and F(ab')₂. *Europ.J.Immunol.* 6, 38-42.

182-KASSEL R.L., OLD L.J., CARSWELL E.A., FIORE N.C. et HARDY W.D. (1973) Serum mediated leukemia cell destruction in AKR mice. Role of the complement in the phenomenon. *J.Exp.Med.* 138, 925-938.

183-KATZ D.H., ELLMAN L., PAUL W.E., GREEN J. et BENACERRAF B. (1972) Resistance of guinea pigs to leukemia following transfer of immunocompetent allogeneic cells. *Cancer Res.* 32, 133-140.

184-KEISARI Y. et WITZ I.P. (1975) The specific blocking of humoral immune cytolysis mediated by antitumor antibodies degraded by lysosomal enzymes of tumor origin. *Eur.J.Immunol.* 5, 790-795.

- 185-KELLER R. (1974) Modulation of cell proliferation by macrophage: a possible function apart from cytotoxic tumour rejection. *Brit.J.Cancer* 30, 401-415.
- 186-KELLOFF G.J., PETERS R.L., DONAHOE R.M., GHAZZOULI I., SASS B., NIMS R.M. et HUEBNER R.J. (1976) An approach to C type virus immunoprevention of spontaneously occurring tumors in laboratory mice. *Cancer Res.* 36, 622-630.
- 187-KENDE M., KEYS L.D., GASTON M. et GOLDIN A. (1975) Immunochemotherapy of transplantable Moloney leukemia with cyclophosphamide and allogeneic spleen lymphocytes and reversal of graft versus host disease with alloantiserum. *Cancer Res.* 35, 346-351.
- 188-KERN D.H., DECKERNION J.B. et PILCH Y.H. (1976) Intracellular localisation of antitumor immune RNA. *Cell.Immunol.* 22, 11-18.
- 189-KERN D.H., FRITZE D., DROGEMULLER C.R. et PILCH Y.H. (1976) Mediation of cytotoxic immune response against human tumor associated antigens by xenogeneic immune RNA. *J.Natl.Cancer Inst.* 57, 97-104.
- 190-KERN D.H., FRITZE D., SCHICK P.M., CHOW N. et PILCH Y.H. (1976) Mediation of cytotoxic immune response against human tumor associated antigens by allogeneic immune RNA. *J.Natl.Cancer Inst.* 57, 105-110.
- 191-KIKUCHI K., ISHII Y., UENO H. et KOSHIBA H. (1976) Cell mediated immunity involved in autochthonous tumor rejection in rats. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 276, 188-206.
- 192-KIRKWOOD J.M. et GERSHON R.K. (1974) A role for suppressor T cells in immunological enhancement of tumor growth. *Prog.Exp.Tumor Res.* 19, 157-164.
- 193-KLEIN E. (1973) Effect of immunization on the spread of transplanted mouse lymphoma cells. *J.Natl.Cancer Inst.* 51, 1991-1993.
- 194-KLEIN G., SJÖGREN H.O. et KLEIN E. (1962) Demonstration of host resistance against isograft transplantation of lymphomas induced by the Gross agent. *Cancer Res.* 22, 955-960.
- 185-KLOUDA P.T., LAWLER S.D., POWLES R.L., OLIVER R.T.D. et GRANT C.K. (1975) HL-A antibody response in patients with acute myelogenous leukemia treated by immunotherapy. *Transplantation* 19, 245-249.
- 186-KOBAYASHI H., GOTOHDA E., HOSOKAWA M. et KODAMA T. (1975) Inhibition of metastasis in rats immunized with xenogenized autologous tumour cells after excision of the primary tumour. *J.Natl.Cancer Inst.* 54, 997-999.
- 187-KOBAYASHI H., GOTHODA E., KUZUMAKI N., TAKEICHI N., HOSOKAWA M. et KODAMA T. (1974) Reduced transplantability of syngeneic tumors in rats immunized with allogeneic tumors. *Int.J.Cancer* 13, 522-529.
- 188-KODAMA T., GOTHODA E. et KOBAYASHI H. (1974) Morphological aspects of xenogeneization of tumors by artificial infection with virus. *GANN Monog.Cancer Res.* 16, 167-181.

- 189-KOLLMORGEN G.M., COX D.C., KILLION J.J., CANTRELL J.L. et SANSING W.A. (1976) Immunotherapy of EL4 lymphoma with Reovirus. *Cancer Immunol.Immunother.* 1, 239-244.
- 190-KOLLMORGEN G.M., KILLION J.J., SANSING W.A., CANTRELL J.L., BUNDREN J.C. et LEFEVER A.V. (1976) Immunotherapy with neuraminidase treated cells and Bacillus Calmette-Guerin. *Surgery* 79, 202-208.
- 191-KOLSCH E., MENGERSEN R. et DILLER E. (1973) L $\ddot{O}$ w dose tolerance preventing tumor immunity. *Europ.J.Cancer* 9, 879-882.
- 192-KREMENTZ E.T., MANSELL P.W.A., HORNUNG M.O., SAMUELS M.S., SUTHERLAND C.A. et BENES E.N. (1974) Immunotherapy of malignant disease: the use of viable sensitized lymphocytes of transfer factor prepared from sensitized lymphocytes. *Cancer* 33, 394-401.
- 193-KUDO T., AOKI T. et MORRISON J.L. (1974) Stabilisation of antigens on surfaces of malignant cells by formalin treatment. *J.Natl.Cancer Inst.* 52, 1553-1557.
- 194-LAMON E.W., GATTI R.A., KIESSLING R. et FENYÖ E.M. (1975) Comparison of the allospecific and viral specific immune responses to irradiated versus formaldehyde fixed allogeneic Moloney lymphoma cells in CBA mice. *Cancer Res.* 35, 962- 969.
- 195-LAUFS R. et STEINKE H. (1975) Vaccination of non human primates against malignant lymphoma. *Nature* 253, 71-72.
- 196-LAUFS R. et STEINKE H. (1975) Passive immunization of marmoset monkeys against neoplasia induced by a herpes virus. *Nature* 255, 226-228.
- 197-LAW L.W., HENRIKSEN O. et APPELLA E. (1975) Tumour rejection properties of solubilized TSTA from a SV40 induced neoplasm. *Nature* 257, 234-235.
- 198-LEJEUNE F.J. (1975) Role of macrophages in immunity with special reference to tumour immunology. A review. *Biomedicine* 22, 25-34.
- 199-LESLEY J., HYMAN R. et DENNERT G. (1974) Effect of antigen density on complement mediated lysis, T cell mediated killing and antigenic modulation. *J.Natl.Cancer Inst.* 53, 1759-1765.
- 200-LEVIN A.S., BYERS V.S., FUDENBERG H.H., WYBRAN J., HACKETT A.J. JOHNSTON J.O. et SPITLER L.E. (1975) Osteogenic sarcoma. Immunologic parameters before and during immunotherapy with tumor specific transfer factor. *J.Clin.Invest.* 55, 487-499.
- 201-LEVY J.G., WHITNEY R.B., SMITH A.G. et PANNO L. (1974) The relationship of immune status to the efficacy of immunotherapy in preventing tumour recurrence in mice. *Brit.J.Cancer* 30, 289-296.
- 202-LEVY J.P. et LECLERC J.C. (1975) Immune rejection of tumor cells: "in vivo" significance of antitumor "in vitro" immune reactions. *Biomedicine* 22, 249-254.

- 203-LEVY R., HURWITZ E., MARON R., ARNON R. et SELA M. (1975) The specific effects of daunomycin conjugated to antitumor antibodies. *Cancer Res.* 35, 1182-1186.
- 204-LIANG W. et COHEN E.P. (1976) Resistance to murine leukemia in mice rejecting syngeneic somatic hybrid cells. *J.Immunol.* 116, 623-626.
- 205-LIKHITE V. et SEHON A. (1972) Cell mediated tumor allograft immunity: in vitro transfer with RNA. *Science* 175, 204-205.
- 206-LINDENMANN J. et KLEIN P.A. (1967) Viral oncolysis: increased immunogenicity of host cell antigen associated with influenza virus. *J.Exp.Med.* 126, 93-108.
- 207-LINFORD J.H., FROESE G., BERCZI I et ISRAELS L.G. (1974) An alkylating agent-globulin conjugate with both alkylating and antibody activity. *J.Natl. Cancer Inst.* 52, 1665-1668.
- 208-LOBUGLIO A.F., NEIDHART J.A., HILBERG J.A., METZ E.N. et BALCERZAK S.P. (1973) The effect of transfer factor therapy on tumor immunity in alveolar soft part sarcoma. *Cell.Immunol.* 7, 159-165.
- 209-MALLINGER A.G., JOZWIAK E.L. et CARTER J.C. (1972) Preparation of boron-containing bovine γ globulin as a model compound for a new approach to slow neutron therapy of tumors. *Cancer Res.* 32, 1947-1950.
- 210-MANSELL P.W.A., ICHINOSE H., REED R.J., KREMENTZ E.T., McNAMEE R. et DILUZIO N.R. (1975) Macrophage mediated destruction of human malignant cells in vivo. *J.Natl.Cancer Inst.* 54, 571-580.
- 211-MARTIN-CHANDON M.R., VANKY R., CARNAUD C. et KLEIN E. (1975) In vitro "education" on autologous human sarcoma generates non specific killer cells. *Int.J.Cancer* 15, 342-350.
- 212-MASTRANGELO M.J., BERD D. et BELLET R.E. (1976) Critical review of previously reported clinical trials of cancer immunotherapy with non specific immunostimulants. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 277, 94-123.
- 213-MATHE G. (1971) Active immunotherapy. *Adv.Cancer Res.* 14, 1-36.
- 214-MATHE G. (1976) How far are in vivo models of experimental medicine valid for human medicine ? *Biomedicine* 24, 225-226.
- 215-MATHE G., DEVASSAL F., DELGADO M., POUILLART P., BÉLPOUME D., JOSEPH R., SCHWARZENBERG L., AMIEL J.L., SCHNEIDER M., CATTAN A., MUSSET M., MISSET J.L. et JASMIN C. (1976) Current results of the first 100 cytologically typed acute lymphoid leukemia submitted to BCG active immunotherapy. *Cancer Immunol.Immunother.* 1, 77-86.
- 216-MATHE G., LOC T.B. et BERNARD J. (1958) Effect on mouse leukemia L1210 of combination by diazoreaction of amethopterin and gammaglobulins from hamsters inoculated with such leukemia by heterografts. *C.R.Acad.Sci.* 246, 1626-1628.
- 217-MATHE G., PANNENKO O. et BOURUT C. (1972) Active immunotherapy of AKR mice spontaneous leukemia. *Rev.Europ.Et.Clin.Biol.* 17, 997-1000.

- 218-MATHE G. et SCHWARZENBERG L. (1974) Bone marrow transplantation in France, 1958-73. *Transpl.Proc.* 6, 335-344.
- 219-MATHE G., SCHWARZENBERG L., AMIEL J.L., POUILLART P., HAYAT M., DEVASSAL F., ROSENFELD C. et JASMIN C. (1975) New experimental and clinical data on leukaemia immunotherapy. *Proc.Roy.Soc.Med.* 68, 211-216.
- 220-MATTER A. et ASKONAS B.A. (1976) Protection against murine ascites tumours by lymphoid cell populations with T memory or cytotoxicity. *Transplantation* 22, 184-189.
- 221-McGAUGHEY (1974) Feasability of tumor immunoradiotherapy using radioiodinated antibodies to tumor specific cell membrane antigens with emphasis on leukemias and early metastasis. *Oncology* 29, 302-319.
- 222-MELTZER M.S., LEONARD E.J., HARDY A.S. et RAPP H.J. (1975) Protective tumor immunity induced by potassium chloride extracts of guinea pig hepatomas. *J.Natl.Cancer Inst.* 54, 1349-1354.
- 223-MIHICH E. (1969) Modification of tumor regression by immunologic means. *Cancer Res.* 29, 2345-2350.
- 224-MILAS L., KOGELNIK H.D., BASIC I., HASON K., HUNTER N. et WITHERS H.R. (1975) Combination of C.parvum and specific immunization against artificial pulmonary metastasis in mice. *Int.J.Cancer* 16, 738-746.
- 225-MILLECK J. (1975) On the mode of action of heterologous antileukemic sera. Growth of syngeneically transplanted leukemias in serum treated sublethally irradiated mice. *Arch.Geschwulstforsch* 45, 40-45.
- 226-MILLER C.W., DEBLASI R.F. et FISHER S.J. (1976) Immunological studies in murine osteosarcoma. Immunogenicity growth kinetics and immunotherapy. *J.Bone Joint Surg.* 58, 312-316.
- 227-MITSUI H. (1974) Purification of tumor specific antigen of mouse mammary tumor. *GANN Monog.Cancer Res.* 16, 155-166.
- 228-MIZEJEWSKI G.J. et ALLEN R.P. (1974) Immunotherapeutic suppression in transplantable solid tumours. *Nature* 250, 50-51.
- 229-MOOLTEN F.L., CAPPARELL N.J. et COOPERBAND S.R. (1972) Antitumor effects of antibody diphtheria toxin conjugates: use of hapten coated tumor cells as a antigenic target. *J.Natl.Cancer Inst.* 49, 1057-1062.
- 230-MOOLTEN F.L., CAPPARELL N.J. et ZAJDEL S.H. (1975) Antitumor effects of antibody diphtheria toxin conjugates. 3 Cyclophosphamide induced immune unresponsiveness to conjugates. *J.Natl.Cancer Inst.* 55, 709-712.
- 231-MOOLTEN F.L., CAPPARELL N.J., ZAJDEL S.H. et COOPERBAND S.R. (1975) Antitumor effects of antibody diphtheria toxin conjugates. 2 Immunotherapy with conjugates directed against tumor antigens induced by Simian virus 40. *J.Natl.Cancer Inst.* 55, 473-477.

- 232-MOOLTEN F.L. et COOPERBAND S.R. (1970) Selective destruction of target cells by diphtheria toxin conjugated to antibody directed against antigens on the cells. *Science* 169, 68-70.
- 233-MOOLTEN F.L., ZAJDEL S. et COOPERBAND S.R. (1976) Immunotherapy of experimental animal tumors with antitumor antibodies conjugated to diphtheria toxin or ricin. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 277, 690-699.
- 234-MOTTA R. (1971) Passive immunotherapy of leukemia and other cancer. *Adv.Cancer Res.* 14, 161-179.
- 235-NADLER S.H. et MOORE G.E. (1969) Immunotherapy of malignant disease. *Arch.Surg.* 99, 376-381.
- 236-NEFF J.R. et ENNEKING W.F. (1975) Adoptive immunotherapy in primary osteosarcoma, interim report. *J.Bone Joint Surg.* 57, 145-147.
- 237-NEGRONI G. et HUNTER E. (1973) Rejection of polyoma virus induced neoplasms in mice inoculated with complement and antiserum. *J.Natl.Cancer Inst.* 51, 265-268.
- 238-NELSON D.S. (1974) Immunity to infection, allograft immunity and tumour immunity: parallels and contrasts. *Transpl.Rev.* 19, 226-254.
- 239-NESBIT M.E., KERSEY J., FINKLEISTEIN J., WEINER J. et SIMMONS R. (1976) Immunotherapy and chemotherapy in children with neuroblastoma. *J.Natl.Cancer Inst.* 57, 717-720.
- 240-NEWLANDS E.S., OON C.J., ROBERTS J.T., ELLIOTT P., MOULD R.F., TOPHAM C., MADDEN F.J.F., NEWTON K.A. et WESTBURY G. (1976) Clinical trial of combination chemotherapy and specific active immunotherapy in disseminated malignant melanoma. *Brit.J.cancer* 34, 174-179.
- 241-NGU V.A. (1967) Host defenses to Burkitt tumour. *Brit.Med.J.* 1, 345-347.
- 242-NICOLIN A., BINI A., DIPADOVA F. et GOLDIN A. (1976) Immunologic cross reactivity of antigens induced by drug treatment in 2 leukemic sublines. *J.Immunol.* 116, 1347-1349.
- 243-NICOLIN A., CANTI G. et GOLDIN A. (1974) Adoptive immunotherapy in BALB/cxDBA/2 CrF1 mice bearing an immunogenic subline of L1210 leukemia. *Cancer Res.* 34, 3044-3048.
- 244-NICOLIN A., SPEAFICO F., BONMASSAR E. et GOLDIN A. (1976) Antigenic changes of L5178Y lymphoma after treatment with 5-(3,3-dimethyl-1-triazeno)imidazole-4-carboxamide in vivo. *J.Natl.Cancer Inst.* 56, 89-94.
- 245-NORD S. et WEISSMAN I.L. (1974) Radiolabeled antitumor antibodies. III Highly iodinated and highly radioiodinated antibodies. *J.Natl.Cancer Inst.* 53, 959-966.
- 246-OLD L.J., BOYSE E.A., CLARKE D.A. et CARSWELL E. (1962) Antigenic properties of chemically induced tumors. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 101, 80-106.

- 247-OLD L.J., STOCKERT E., BOYSE E.A. et GEERING G. (1967) A study of passive immunization against a transplanted G+ leukemia with specific antiserum. *Proc.Soc.Exp.Biol.Med.* 124, 63-68.
- 248-OLDHAM R.K., WEESE J.L., HERBERMAN R.B., PERLIN E., MILLS M., HEIMS W., BLOM J., GREEN D., REID J., BELLINGER S., LAW I., McCOY J.L. DEAN J.H., CANNON G.B. et DJEU J. (1976) Immunological monitoring and immunotherapy in carcinoma of the lung. *Int.J.Cancer* 18, 739-749.
- 249-OLSEN R.G., MOOVER E.A., MATHES L.E., HEDING L. et SCHALLER J.P. (1976) Immunization against feline oncornavirus disease using a killed tumor vaccine. *Cancer Res.* 36, 3642-3647.
- 250-O'NEILL G.J. (1976) Control of an EL4 lymphoma in nude mice by passively administered antibody. *Europ.J.Cancer* 12, 749-751.
- 251-ORDER S.E. (1976) History and progress of serologic immunotherapy and radiodiagnosis. *Radiology* 118, 219-223.
- 252-ORDER S.E., KIRKEMAN R. et KNAPP R. (1974) Serologic immunotherapy: results and probable mechanism of action. *Cancer* 34, 175-183.
- 253-PAQUE R.E., MELTZER M.S., ZBAR B., RAPP H.J. et DRAY S. (1973) Transfer of tumor specific delayed hypersensitivity in vitro to normal guinea pig peritoneal exudate cells using RNA extracts from sensitized lymphoid tissues. *Cancer Res.* 33, 3165-3171)
- 254-PARAF A., GUERIN-MARCHAND C.I., AUBRY J. et DUBERT J.M. (1975) Inhibition of murine plasmacytoma tumours with antibody activity by their respective specific antigens. *Ann.Immunol.* 126c, 411-422.
- 255-PARAF A., MARCHAND C.G., AUBRY J. et DUBERT J.M. (1975) Inhibition of murine plasmacytoma TEPC 15 by its specific antigen. *Nature* 255, 488-489.
- 256-PARKMAN R. (1974) Tumor hybrid cells: an immunotherapeutic agent *J.Natl.Cancer Inst.* 52, 1541-1546.
- 257-PARMIANI G. et LEMBO R. (1974) Effect of antiembryo immunisation on methylcholanthrene induced sarcoma growth in BALB/c mice. *Int.J.Cancer* 14, 555-564.
- 258-PAVIE-FISHER J., KOURILSKY F.M., PICARD F., BANZET P. et PUIS-SANT A. (1975) Cytotoxicity of lymphocytes from healthy subjects and from melanoma patients against cultured melanoma cells. *Clin.Exp.Immunol.* 21, 430-441.
- 259-PELLIS N.R. et KAHAN B.D. (1975) Specific tumor immunity induced with soluble materials. Restricted range of antigen dose and of challenge tumor load for immunoprotection. *J.Immunol.* 115, 1717-1722.
- 260-PETERS L.J. (1975) Enhancement of syngeneic murine tumor transplantability by whole body irradiation: a non immunological phenomenon. *Brit.J.Cancer* 31, 293-300.
- 261-PIERCE G.E. (1971) Enhancement growth of primary Moloney virus induced sarcomas in mice. *Int.J.Cancer* 8, 22-31.

- 262-PILCH Y.H., FRITZE D., DEKERNION J.B., RAMMING K.P. et KERN D.H. (1976) Immunotherapy of cancer with immune RNA in animal models and cancer patients. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 277, 592-608.
- 263-PILCH Y.H., RAMMING K.P. et DECKERS P.J. (1973) Induction of anticancer immunity with RNA. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 207, 409-429.
- 264-PRAGER M.D., BAECHTEL F.S., RIBBLE R.J., LUDDEN C.M. et MEHTA JM (1974) Immunological stimulation with modified lymphoma cells in a minimally responsive tumor host system. *Cancer Res.* 34, 3203-3209.
- 265-PRAGER M.D., DERR I., SWANN A. et COTROPIA J. (1971) Immunization with chemically modified lymphoma cells. *Cancer Res.* 31, 1488-1491.
- 266-PRAGER M.D., GORDON W.C. et BAECHTEL F.S. (1976) Immunogenicity of modified tumor cells in syngeneic hosts. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 276, 61-74.
- 267-PRAGER M.D., HOLLINSHEAD A.C., RIBBLE R.J. et DERR I. (1973) Induction of immunity to a mouse lymphoma by multiple methods including vaccination with soluble membrane fractions. *J.Natl.Cancer Inst.* 51, 1603-1608.
- 268-PRESSMAN D. et WATANABE T. (1975) Tumor localization of radio-labeled antibodies raised by a mouse plasma cell tumor. *Immunochem.* 12, 580-584.
- 269-RAMACHANDAR K., BAKER M.A. et TAUB R.N. (1975) Antibody response to leukemia associated antigen during immunotherapy of chronic myelocytic leukemia. *Blood* 46, 845-854.
- 270-RAMMING K.P. et PILCH Y.H. (1971) Transfer of tumor specific immunity with RNA: inhibition of growth of murine tumor isografts. *J.Natl.Cancer Inst.* 46, 735-750.
- 271-RAN M., KLEIN G. et WITZ I.P. (1976) Tumor bound immunoglobulins evidence for the in vivo coating of tumor cells by potentially cytotoxic antitumor antibodies. *Int.J.Cancer* 17, 90-97.
- 272-RAO V.S. et BONAVIDA B. (1976) Enhancement of skin allograft survival by soluble alloantigen is serum mediated. *Transplantation* 21, 42-50.
- 273-RAO V.S. et BONAVIDA B. (1976) Specific enhancement of tumor growth and depression of cell mediated immunity following sensitization to soluble tumor antigens. *Cancer Res.* 36, 1384-1391.
- 274-RAY P.K., THAKUR V.S. et SUNDARAM K. (1975) Antitumour immunity I Differential response to neuraminidase treated and X irradiated tumour vaccine. *Europ.J.Cancer* 11, 1-8.
- 275-RAY P.K., THAKUR V.S. et SUNDARAM K. (1976) Antitumour immunity II Viability tumorigenicity and immunogenicity of neuraminidase treated tumour cells: effective immunization of animals with a tumour vaccine. *J.Natl.Cancer Inst.* 56, 83-88.

- 276-REES R.C., SHAH L.P. et BALDWIN R.W. (1975) Inhibition of pulmonary tumour development in rats sensitized to rat embryonic tissue. *Nature* 255, 329-330.
- 277-REIF A.E. et KIM C.A. (1969) Therapy of transplantable mouse leukemias with antileukemic sera. *Nature* 223, 1377-1379.
- 278-REIF A.E., ROBINSON C.M. et SMITH P.J. (1976) Preparation and therapeutic potential of rabbit antisera with "directed" specificities for mouse leukemias. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 277, 647-669.
- 279-RHODES J. (1975) Macrophage heterogeneity in receptor activity the activation of macrophage Fc receptor function in vivo and in vitro. *J.Immunol.* 114, 976-981.
- 280-RIGBY P.G. (1969) Prolongation of survival of tumor-bearing animals by transfer of "immune" RNA with DEAE dextran. *Nature* 221, 968-969.
- 281-RIOS A. et SIMMONS R.L. (1973) Immunospecific regression of various syngeneic mouse tumors in response to neuraminidase treated tumor cells. *J.Natl.Cancer Inst.* 51, 637-644.
- 282-RIOS A. et SIMMONS R.L. (1974) Active specific immunotherapy of minimal residual tumor: excision plus neuraminidase treated tumor cells. *Int.J.Cancer* 13, 71-81.
- 283-RIOS A. et SIMMONS R.L. (1976) Experimental cancer immunotherapy: modification of tumor cells to increase immunogenicity. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 276, 45-60.
- 284-ROLLINGHOFF M. et WARNER N.L. (1973) Specificity of in vivo tumor rejection assessed by mixing immune spleen cells with target and unrelated tumor cells. *Proc.Soc.Exp.Biol.Med.* 144, 813-818.
- 285-ROSATO F.E., BROWN A.S., MILLER E.E., ROSATO E.F., MULLIS W.F., JOHNSON J. et MOSKOVITZ A. (1974) Neuraminidase immunotherapy of tumors in man. *Surg.Gynecol.Obstet.* 139, 675-682.
- 286-ROSATO F.E., MILLER E., ROSATO E.F., BROWN A., WALLACK M.K., JOHNSON J. et MOSKOVITZ A. (1976) Active specific immunotherapy of human solid tumors. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 277, 332-338.
- 287-ROSENBERG S.A., SCHWARTZ S. et BAKER B.A.A. (1974) Natural antibodies to "cryptic" membrane antigens exposed by treatment with neuraminidase. *Behring Inst.Mitt.* 55, 204-208.
- 288-ROSENFELD C., ROSETTA L., NEAUPORT C., DORE J.F. et SINAY P. (1974) Variations of sialic acid content on membranes from human lymphoid cells in culture: regeneration and relationship with affinity for antilymphocyte serum. *Behring Inst.Mitt.* 55, 223-223.
- 289-ROUSE B.T., ROLLINGHOFF M. et WARNER N.L. (1973) Tumor immunity to murine plasma cell tumors. II Essential role of T lymphocytes in immune response. *Europ.J.Immunol.* 3, 218-224.

- 290-ROWLAND G.F., O'NEILL G.J. et DAVIS D.A.L. (1975) Suppression of tumor growth in mice by a drug antibody conjugate using a novel approach to linkage. *Nature* 255, 487-488.
- 291-RUBENS R.D. et DULBECCO R. (1974) The augmentation of cytotoxic drug action by antibodies directed at the cell surface. *Nature* 248, 81-82.
- 292-RUBENS R.D., VAUGHAN N., SMITH S. et DULBECCO R. (1975) Augmentation of cytotoxic drug action and X irradiation by antibodies. *Brit.J.Cancer* 32, 352-354.
- 293-RUBINSTEIN P., DECARY F. et STREUN E.W. (1975) Quantitative studies on tumor enhancement in mice: I enhancement of sarcoma I induced by IgM, IgG1, IgG2. *J.Exp.Med.* 140, 591-596.
- 294-SACHS K.L., OLWENY C., MANN D.L., SIMON R., JOHNSON G.E., POPLACK D.G. et LEVENTHAL B.G. (1975) A clinical trial of chemotherapy and RAJI immunotherapy in advanced acute lymphatic leukemia. *Cancer Res.* 35, 3715-3720.
- 295-SALAMAN M. (1974) Transfer Factor. *Cur.Titles Immunol.* 2, 67-70.
- 296-SCANLON E.F., HAWKINS R.A. et FOX W.W. (1965) Fatal homotransplanted melanoma. *Cancer* 18, 782-789.
- 297-SCHAUF V., MASSEY R., DEINHARDT F. et KRUSE R. (1975) Immunization of Rous sarcoma virus inoculated marmosets with BCG and transformed allogeneic cells. *J.Natl.Cancer Inst.* 54, 151-156.
- 298-SCHLAGER S.I. et DRAY S. (1975) Tumor regression at an untreated site during immunotherapy of an identical distant tumor. *Proc.Nat.Acad.Sci.* 72, 3680-3682.
- 299-SCHLAGER S.I., PAQUE R.E. et DRAY S. (1975) Complete and apparently specific local tumor regression using syngeneic or xenogeneic tumor immune RNA extracts. *Cancer Res.* 35, 1907-1914.
- 300-SCHWEIZER K., GILLISSEN G. et LUTZEYER W. (1974) Immunologically induced inhibition and enhancement of tumor growth (EAT): significance of different antigenic preparation. *Med.Microbiol.Immunol.* 159, 251-260.
- 301-SEDLACEK H.H., MEESMAN H. et SEILER F.R. (1975) Regression of spontaneous mammary tumors in dogs after injection of neuraminidase treated tumor cells. *Int.J.Cancer* 15, 409-416.
- 302-SEDLACEK H.H. et SEILER F.R. (1974) Demonstration of vibrio-cholerae neuraminidase (VCN) on the surface of VCN treated cells. *Behring Inst.Mitt.* 55, 254-257.
- 303-SEDLACEK H.H. et SEILER F.R. (1974) Dose dependency of the effect of syngeneic vibrio-cholerae neuraminidase treated mastocytoma cells on the life span of DBA/2 mice. *Behring Inst.Mitt.* 55, 343-348.
- 304-SEGERLING M., OHANIAN S.H. et BORSOS T. (1974) Effect of metabolic inhibitors on killing of tumor cells by antibody and complement. *J.Natl.Cancer Inst.* 53, 1411-1413.

- 305-SEGERLING M., OHANIAN S.H. et BORSOS T. (1975) Enhancing effect by metabolic inhibitors on the killing of tumor cells by antibody and complement. *Cancer Res.* 35, 3195-3203.
- 306-SEGERLING M., OHANIAN S.H. et BORSOS T. (1975) Effect of metabolic inhibitors on the ability of tumor cells to express antigen and bind complement components C3 and C4. *Cancer Res.* 35, 3204-3208.
- 307-SEGERLING M., OHANIAN S.H. et BORSOS T. (1975) Chemotherapeutic drugs increase killing of tumor cells by antibody and complement. *Science* 188, 55-57.
- 308-SEIGLER H.F., BUCKLEY C.E., SHEPPARD L.B., HORNE B.J. et SHINGLETON L.B. (1976) Adoptive transfer and specific active immunization of patients with malignant melanoma. *Ann.Acad.N.Y.Sci.* 277, 522-532.
- 309-SENDO F., NAKAYAMA M., GOTOHDA E. et KOBAYASHI H. (1976) Non specific inhibition of tumor growth in vivo by admixed allogeneic tumor sensitized lymphoid cells and identical inactivated allogeneic tumor cells. *J.Immunol.* 117, 1340-1345.
- 310-SETHI K.K. et BRANDIS H. (1973) Neuraminidase induced loss in transplantability of murine leukemia L1210, induction of immunoprotection and the transfer of induced immunity to normal DBA/2 mice by serum and peritoneal cells. *Brit.J.Cancer* 27, 106-113.
- 311-SETHI K.K. et BRANDIS H. (1974) Possible mechanisms to account for the loss in the transplantability of neuraminidase treated leukemic L1210 cells for compatible mouse strains. *Behring Inst.Mitt.* 55, 329-334.
- 312-SHARMA B. et TERASAKI P.I. (1974) In vitro immunization to cultured human tumor cells. *Cancer Res.* 34, 115-118.
- 313-SHIN H.S., ECONOMOU J.S., PASTERNAK G.R., JOHNSON R.J. et HAYDEN M.L. (1976) Antibody mediated suppression of graft lymphoma. IV Influence of time of tumor residency in vivo and tumor size upon the effectiveness of suppression by syngeneic antibody. *J.Exp.Med.* 144, 1274-1283.
- 314-SHIN H.S., HAYDEN M.L. et GATELY C.L. (1974) Antibody mediated suppression of lymphoma: participation of platelets, lymphocytes, and non phagocytic macrophages. *Proc.Nat.Acad.Sci.* 71, 163-166.
- 315-SHIN H.S., HAYDEN M., LANGLEY S., KALISS N. et SMITH M.R. (1975) Antibody mediated suppression of graft lymphoma. III Evaluation of the role of thymic function, non thymus derived lymphocytes, macrophages, platelets and polymorphonuclear leukocytes in syngeneic and allogeneic hosts. *J.Immunol.* 114, 1255-1263.
- 316-SHIN H.S., KALISS N. et BORENSTEIN D. (1972) Antibody mediated suppression of grafted lymphoma cells. I Participation of a host factor(s) other than complement. *Proc.Soc.Exp.Biol.Med.* 139, 684-689.

317-SHIN H.S., KALISS N., BORENSTEIN D. et GATELY M.K. (1972) Antibody mediated suppression of grafted lymphoma cells. II Participation of macrophages. *J.Exp.Med.* 136, 375-380.

318-SHIN H.S., PASTERNAK G.R., ECONOMOU J.S., JOHNSON R.J. et HAYDEN M.L. (1976) Immunotherapy of cancer with antibody. *Science* 194, 327-329.

319-SIMES R.J., KEARNEY R. et NELSON D.S. (1975) Role of a non committed accessory cell in the in vivo suppression of a syngeneic tumour by immune lymphocytes. *Immunology* 29, 343-352.

320-SIMMONS R.L. et RIOS A. (1975) Comparative immunotherapeutic effect of concanavalin A and neuraminidase treated cells. *Transpl.Proc.* 7, 247-251.

321-SINKOVICS J.G. (1976) Discussion paper: modalities of immunotherapy for virally induced murine neoplasms. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 276, 557-564.

322-SKURKOVICH S.V., KISLJAC N.S., BULICHEVA T.I., MAKHONOVA L.A., MAJAKOVA S.A., SKORIKOVA A.S. et ERJEMKINA E.I. (1976) Active immunization of children suffering from acute leukemia in remission with "living" mixed leukoblast vaccine and means of enhancement of anti-leukemic immunity. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 277, 384-395.

323-SLETTENMARK B. et KLEIN E. (1962) Cytotoxic and neutralisation tests with serum on lymph node cells of isologous mice with induced resistance against Gross lymphomas. *Cancer Res.* 22, 947-954.

324-SMALL M. et TRAININ N. (1975) Inhibition of syngeneic fibrosarcoma growth by lymphocytes sensitized on tumor cell monolayers in the presence of the thymic humoral factor. *Int.J.Cancer* 15, 962-972.

325-SMALL M. et TRAININ N. (1976) Separation of population of sensitized lymphoid cells into fractions inhibiting and fractions enhancing syngeneic tumor growth in vivo. *J.Immunol.* 117, 292-297.

326-SMITH H.G., MELTZER M.S. et LEONARD E.J. (1976) Suppression of tumor growth in strain 2 guinea pigs by xenogeneic antitumor antibody. *J.Natl.Cancer Inst.* 57, 809-814.

327-SOKAL J.E. et AUNGST C.W. (1975) Immunotherapy with cultured human cells and BCG. *Transpl.Proc.* 7, 317-321.

328-SOKAL J.E., AUNGST C.W., SNYDERMAN M. et GOMEZ G. (1976) Immunotherapy of chronic myelocytic leukemia, effects of different vaccination schedules. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 277, 367-383.

329-SOUTHAM C.M. (1976) History and prospects of immunotherapy of cancer: an introduction. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 277, 1-6.

330-SPITLER L.E., LEVIN A.S. et WYBRAN J. (1976) Combined immunotherapy in malignant melanoma. Regression of metastatic lesions in two patients concordant in timing with systemic administration of transfer factor and Bacillus Calmette-Guerin. *Cell.Immunol.* 21, 1-19.

- 331-STEWART T.H.M., HOLLINSHEAD A.C., HARRIS J.E., BELANGER R., CREPEAU A., HOOPER J.E., SACHS H.J., KLAASSEN D.J., HIRTE W., RAPP E., CROOK A.F., ORIZAGA M., SENGAR D.P.S. et RAMAN S. (1976) Immunotherapy of lung cancers. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 277, 436-466.
- 332-STUHL MILLER G.M., MOHANAKUMAR T., METZGAR R.S. et SEIGLER H.F. (1976) The use of non human primates for production of antisera to human tumor associated antigens. *J.Immunol.Meth.* 12, 267-274.
- 333-STULTING R.D., TODD R.F. et AMOS D.B. (1975) Lymphocyte mediated cytotoxicity of allogeneic tumor cells in vitro. II Binding of cytotoxic lymphocytes to formaldehyde fixed target cells. *Cell. Immunol.* 20, 54-63.
- 334-TACHIBANA T., DEI T. et NORI C. (1974) Hybrids between malignant and normal cells: their tumorigenicity, expression of surface antigens, and resistance inducing ability. *GANN Monog.Cancer Res.* 16, 183-193.
- 335-TAKEICHI N. et BOONE C.W. (1975) Local adoptive transfer of the antitumor cellular immune response in syngeneic and allogeneic mice studied with a rapid radioisotopic footpad assay. *J.Natl.Cancer Inst.* 55, 183-188.
- 336-TAKEICHI N., KUZUMAKI N., KODAMA T., KOBAYASHI H. et BOONE C.W. (1976) Adoptive immunotherapy of a Gross virus producing lymphoma and a methylcholanthrene induced fibrosarcoma in tolerant rats. *Cancer Res.* 36, 4039-4043.
- 337-TERMAN D.S., STEWART I., TAVEL A. et KIRCH D. (1975) Localization of neuroblastoma in vivo with tumor specific antibodies. *Cancer Res.* 35, 1761-1766.
- 338-TEVETHIA M.J. et TEVETHIA S.S. (1976) Biology of SV40 transplantation antigen (TrAg) I Demonstration of SV40 TrAg on glutaraldehyde fixed SV40 infected African Green monkey kidney cells. *Virology* 69, 474-489.
- 339-TING C.C. (1976) Studies of the mechanisms for the induction of in vivo tumor immunity. I Induction of primary and secondary cell mediated cytotoxic responses by adoptive transfer of lymphocytes. *Cell.Immunol.* 27, 71-81.
- 340-TING C.C. et GRANT J.P. (1976) Humoral antibody response and tumor transplantation resistance elicited by fetal tissues in mice. *J.Natl.cancer Inst.* 56, 401-404.
- 341-TING C.C. et HERBERMAN R.B. (1975) Specific afferent interference by antiserum of in vivo immunity. *Nature* 257, 801-802.
- 342-TREVES A.J., CARNAUD C., TRAININ N., FELDMAN M. et COHEN I.R. (1974) Enhancing T lymphocytes from tumor bearing mice suppress host resistance to a syngeneic tumor. *Europ.J.Immunol.* 4, 722-726.
- 343-TREVES A.J. et COHEN I.R. (1973) Recruitment of effector T lymphocytes against a tumor allograft by T lymphocytes sensitized in vitro. *J.Natl.cancer Inst.* 51, 1919-1925.

- 344-TREVES A.J., COHEN I.R. et FELDMAN M. (1975) Immunotherapy of lethal metastasis by lymphocytes sensitized against tumor cells in vitro. *J.Natl.Cancer Inst.* 54, 777-780.
- 345-TREVES A.J., COHEN I.R., SCHECHTER B. et FELDMAN M. (1976) In vivo effects of lymphocytes sensitized in vitro against tumor cells. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 276, 165-175.
- 346-TRUITT R.L., POLLARD M. et SRIVASTAVA K.K. (1974) Allogeneic bone marrow chimerism in germ free mice. III Therapy of leukemic AKR mice. *Proc.Soc.Exp.Biol.Med.* 146, 153-158.
- 347-UHLENBRUCK G. et ROTHE A. (1974) Biological alterations of membrane bound glycoproteins by neuraminidase treatment. *Behring Inst.Mitt.* 55, 177-185.
- 348-UMIEL T. et TRAININ N. (1974) Immunological enhancement of tumor growth by syngeneic thymus derived lymphocytes. *Transplantation* 18, 244-250.
- 349-VAN OSS C.J., GILLMAN C.F. et NEUMANN A.W. (1974) Phagocytosis as a surface phenomenon. IV The minimum size and composition of antigen antibody complexes that can become phagocytized. *Immunol. Comm.* 3, 77-84.
- 350-VELTMAN L.L., KERN D.H. et PILCH Y.H. (1974) Immune cytolysis of human tumor cells mediated by xenogeneic "immune"RNA. *Cell.Immunol.* 13, 367-377.
- 351-VON LEYDEN V.E. et BLUMENTHAL F. (1902) Verlantige mittheilungen uber einige ergebnisse der krebsforschung auf der 1 medizinische klinik. *D.Med.Wschr.* 28, 637-638.
- 352-WALDMAN S.R. et PILCH Y.H. (1975) Specific MIF release by rat lymphocytes following incubation with syngeneic antitumor "immune" RNA. *Cell.Immunol.* 18, 246-250.
- 353-WEINER R.S., HUBBARD J.D. et MARDINEY M.R. (1972) Production of tumor specific antibody in the xenogeneic host. Use of blocking antibody. *J.Natl.Cancer Inst.* 49, 1063-1070.
- 354-WEXLER H., CHRETIEN P.B., KETCHAM A.S. et SINDELAR W.F. (1975) Induction of pulmonary metastasis in both immune and non immune mice. Effect of the removal of a transplanted primary tumor. *Cancer* 36, 2042-2047.
- 355-WHEELOCK E.F. (1976) Humoral immune response to tumor associated antigens. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 277, 706-707.
- 356-WIEDERMAN G., DENK H., STEMBERGER H., ECKERSTORFER R. et TAPPEINER G. (1975) Influence of the antigenicity of target cells on the antibody mediated cytotoxicity of non sensitized lymphocytes. *Cell.Immunol.* 17, 440-446.
- 357-WOOD G.W. et GILLESPIE G.Y. (1975) Studies on the role of the macrophages in regulation of growth and metastasis of murine chemically induced fibrosarcomas. *Int.J.Cancer* 16, 1022-1029.

- 358-WOODRUFF M.F.A. et BOAK J.S. (1965) Inhibiting effect of pre-immunized CBA spleen cells or transplants of A strain mouse mammary carcinoma in (CBAXA)F1 hybrid recipients. *Brit.J.Cancer* 19, 411-417.
- 359-WOODRUFF M.F.A. et NOLAN B. (1963) Preliminary observations on treatment of advanced cancer by injection of allogeneic spleen cells. *Lancet* ii, 426-429.
- 360-WRATHMELL A.B. et ALEXANDER P. (1976) Immunogenicity of a rat leukemia of spontaneous origin (SAL). *Brit.J.Cancer* 33, 181-186.
- 361-YOHN D.S., OLSEN R.G., SCHALLER J.P., HOOVER E.A., MATHES L.E. HEDING L. et DAVIS G.W. (1976) Experimental oncornavirus vaccines in the cat. *Cancer Res.* 36, 646-657.
- 362-YONEMETO R.H. (1976) Adoptive immunotherapy utilising thoracic duct lymphocytes. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 277, 7-19.
- 363-YONEMETO R.H. et TERASAKI P.I. (1972) Cancer immunotherapy with HL-A compatible thoracic duct lymphocyte transplantation. A preliminary report. *Cancer* 30, 1438-1443.
- 364-YUHAS J.M., TOYA R.E. et WAGNER E. (1975) Specific and non specific stimulation of resistance to the growth and metastasis of the line 1 lung carcinoma. *Cancer Res.* 35, 242-244.
- 365-YUTOKU M., GROSSBERG A.L. et PRESSMAN D. (1974) Suppression of in vivo growth of mouse myelomas by purified rabbit antibodies against mouse myeloma cells. *J.Natl.cancer Inst.* 53, 201-207.
- 366-YUTOKU M. et KITAGAWA M. (1975) The role of alloantibodies on in vivo growth of allografted tumor. *Transpl.Proc.* 7, 243-246.
- 367-ZARLING J.M. et TEVETHIA S.S. (1973) Transplantation immunity to simian virus 40 transformed cells in tumor bearing mice. I Development of cellular immunity to simian virus 40 specific transplantation antigens during tumorigenesis by transplanted cells. *J.Natl.Cancer Inst.* 50, 141-147.
- 368-ZARLING J.M. et TEVETHIA S.S. (1973) Transplantation immunity to simian virus 40 transformed cells in tumor bearing mice. II Evidence for macrophage participation at the effector level of tumor rejection. *J.Natl.Cancer Inst.* 50, 149-157.
- 369-ZIGHELBOIM J., BONAVIDA B. et FAHEY J.L. (1974) Antibody mediated in vivo suppression of EL4 leukemia in a syngeneic host. *J.Natl.Cancer Inst.* 52, 879-882.
- 370-ZOLA H. (1974) Modulation of the immune response to transplantation antigens. II The effects of heterologous antisera on the growth of tumour allografts in mice. *Clin.Exp.Immunol.* 16, 461-468.
- 371-ZOLA H. (1975) Modulation of the immune response to transplantation antigens. IV Enhanced growth of tumour allografts in mice immunized with papain solubilized transplantation antigen. *Ann.Immunol.* 126c, 51-62.

